

UNIVERSITATEA BUCUREȘTI
FACULTATEA DE CHIMIE
CATEDRA DE CHIMIE ANALITICĂ

ANDREI F. DĂNEȚ

METODE AUTOMATE DE ANALIZA IN FLUX

BUCUREȘTI
1992



BIBLIOTECA CENTRALĂ
UNIVERSITARĂ
București

Cota III 445819

Inventar 759192

UNIVERSITATEA DIN BUCURESTI
FACULTATEA DE CHIMIE
CATEDRA DE CHIMIE ANALITICA

ANDREI F. DĂNET

METODE AUTOMATE DE ANALIZĂ
IN FLUX

BUCURESTI

1992

Biblioteca Centrală Universitară
BUCUREȘTI
Cota III 445.849
Inventar - 751.192

Lucrarea a fost analizată și avizată de
colectivul catedrei de chimie analitică,
de conducerea Facultății de chimie și a
Universității din București.

Referenți științifici:

Prof. dr. Constantin Pătroescu

Prof. dr. Vasile Magearu

Conf. dr. Dumitru Cruțeru

1. METODE AUTOMATE DE ANALIZA	1
1.1. Introducere	1
1.2. Definiții ale unor noțiuni legate de procesele analitice și automatizarea acestora	3
1.3. Obiective ale automatizării proceselor analitice	7
1.4. Clasificarea analizatoarelor automate	8
1.5. Dezavantajele automatizării	12
Bibliografie	13
2. METODE AUTOMATE DE ANALIZA IN FLUX. PRINCIPII GENERALE SI CLASI- FICAREA METODELOR AUTOMATE DE ANALIZA IN FLUX	15
3. METODE DE ANALIZA IN FLUX SEGMENTAT	18
3.1. Schema generală a unui analizor în flux segmentat. Princi- pii generale ale analizei în flux segmentat	18
3.2. Părțile constitutive ale unui analizor în flux segmentat .	20
3.3. Principii teoretice ale analizei în flux segmentat	25
3.3.1. Cinetica formării semnalului analitic	25
3.3.2. Interacțiunea dintre probele adiacente	27
3.3.3. Durata unei determinări și factorii care afectează calitatea semnalului analitic	32
Bibliografie	36
3.4. Aplicații ale metodelor de analiză în flux segmentat . . .	37
Bibliografie	48
3.5. Progrese recente în domeniul analizatoarelor în flux segmentat	49
Bibliografie	55
4. ANALIZA PRIN INJECTARE IN FLUX	56
4.1. Introducere în analiza prin injectare în flux	56
4.1.1. Caracteristici esențiale ale FIA	59
4.1.2. Comparație între FIA și alte tehnici analitice	61
4.1.2.1. FIA și cromatografia de lichide de înaltă perfor- manță	61
4.1.2.2. FIA și analiza în flux segmentat	61
Bibliografie	63
4.2. Principiile generale ale analizei prin injectare în flux .	66
4.2.1. Principii ale FIA și caracteristici ale semnalelor în- registrate	66
4.2.2. Dispersia zonei probei și factorii principali care o influențează	70
4.2.2.1. Coeficientul de dispersie	70

4.2.2.2. Relația dintre înălțimea picului și volumul probei injectate	73
4.2.2.3. Relația dintre înălțimea picului, diametrul și lungimea tubului în care are loc dispersia zonei probei și debitul fluxului transportor	73
4.2.2.4. Relația dintre înălțimea picului și geometria canalului prin care are loc curgerea	75
4.2.2.5. Dispersia zonei unei probe în fluxul transportor la utilizarea unui sistem FIA cu o singură linie și cu două sau mai multe linii	81
Bibliografie	85
4.3. Aspecte teoretice ale analizei prin injectare în flux . . .	86
4.3.1. Considerații teoretice generale	86
4.3.2. Modele teoretice pentru dispersia probei în FIA . . .	89
4.3.2.1. Modelul Taylor	92
4.3.2.2. Modelul vaselor în serie	93
4.3.2.3. Modelul general	94
Bibliografie	96
4.4. Componente de bază ale unui sistem de analiză prin injectare în flux	97
4.4.1. Sisteme de generare a fluxurilor de lichid (pompele) .	97
4.4.2. Sisteme de injectare	101
4.4.2.1. Sisteme de injectare bazate pe volum	102
4.4.2.1.1. Sisteme de injectare cu seringă	102
4.4.2.1.2. Valve de injectare	103
4.4.2.1.3. Sisteme de injectare hidrodinamică	111
4.4.2.2. Sisteme de injectare bazate pe timp	111
4.4.3. Sistemul de transport și de reacție, conectori, reactivi și alte componente	114
4.4.3.1. Componente pentru separări prin difuzie gazoasă .	117
4.4.3.2. Componente pentru separări prin dializă	118
4.4.3.3. Componente pentru separări prin extracție lichid-lichid	119
4.4.4. Detectori folosiți în FIA	122
4.4.4.1. Detectori optici	124
4.4.4.2. Detectori electrochimici	128
4.4.5. Analizoare FIA disponibile comercial	132
Bibliografie	135
4.5. Tehnici utilizate în FIA	137
4.5.1. Tehnici FIA cu o singură linie	137
4.5.2. Tehnici FIA cu două sau mai multe linii	142
4.5.3. Tehnici FIA cu buclă închisă	146

4.5.3.1. Tehnici cu o unitate de regenerare a reactivului sau de îndepărtare a produşilor de reacţie	146
4.5.3.2. Tehnici fără o unitate de regenerare a reactivului sau de îndepărtare a produşilor de reacţie	149
4.5.4. Tehnici FIA cu luarea probei din zona dispersată şi cu captarea zonei dispersate	150
4.5.5. Tehnica FIA inversă	151
4.5.6. Tehnici FIA bazate pe multidetecţie şi multideterminare	152
4.5.7. Tehnici FIA cu gradienti	157
4.5.7.1. Diluarea cu gradienti	158
4.5.7.2. Baleiajul pe gradienti	160
4.5.7.3. Calibrarea cu gradienti	161
4.5.7.4. Tehnici FIA bazate pe stoparea curgerii pe gradienti	162
4.5.7.5. Titrări FIA bazate pe utilizarea unei camere de amestecare	165
4.5.7.6. Titrări FIA fără cameră de amestecare	169
4.5.7.7. Tehnici FIA bazate pe folosirea unor gradienti de pH	171
4.5.8. Tehnici FIA bazate pe întâlnirea zonelor	173
4.5.9. Tehnici FIA bazate pe penetrarea zonelor	175
4.5.9.1. Determinarea coeficienţilor de selectivitate . . .	176
4.5.9.2. Aplicarea metodei aditivilor standard	179
4.5.10. Tehnici FIA bazate pe procese de separare	182
4.5.10.1. Separări prin extracţie cu solvenţi	182
4.5.10.2. Separări prin difuzie gazoasă	186
4.5.10.3. Separări prin dializă	187
4.5.11. Tehnici FIA bazate pe pretratarea probelor în reactori cu umplură	190
4.5.11.1. Reactori cu schimbători de ioni sau cu materiale de umplură care convertesc unul sau mai mulţi constituenţi ai probei în specii uşor detectabile	190
4.5.11.2. Reactori cu enzime imobilizate	192
Bibliografie	197
4.6. aplicaţii ale metodei de analiză prin injectare în flux . .	202
Bibliografie	212
5. ALTE METODE DE ANALIZA IN FLUX	219
5.1. Metode de analiză în flux cu amestecare continuă	219
5.1.1. metode de analiză în flux cu introducerea continuă a probei	219
5.1.2. Metode de analiză în flux cu introducerea intermitentă a probelor	223
Bibliografie	225

INTRODUCERE

În ultimele decenii se poate constata folosirea pe scară din ce în ce mai mare a automatizării în numeroase domenii ale științei și tehnicii. Acest lucru a fost posibil datorită progreselor deosebite realizate în ramuri tehnologice de vîrf, cum ar fi micromecanica, microelectronica și în special construcția de calculatoare.

Automatizarea unor procese sau tehnologii prezintă avantaje deosebite, asupra cărora nu vom insista, permițînd realizarea unor performanțe și a unor prețuri de cost a produselor obținute, inaccesibile în alt mod.

Și în domeniul chimiei analitice automatizarea și-a găsit un domeniu larg de aplicare, în prezent fiind din ce în ce mai dificil, iar în anumite cazuri chiar imposibil, de a rezolva problemele ce stau în fața unui chimist analist fără a utiliza metode automate de analiză.

Automatizarea proceselor analitice se poate realiza în mai multe moduri, după cum este prezentat în capitolul 1 al acestei lucrări. Dintre acestea, foarte important este cel bazat pe utilizarea analizei în flux.

În ultimii 20 - 25 ani metodelor de analiză în flux li s-a acordat o mare atenție fiind aplicate pentru rezolvarea unor probleme analitice de rutină sau de cercetare, Caracteristica comună a acestor metode constă în faptul, că măsurătorile sînt efectuate utilizînd un canal analitic prin care circulă proba de analizat și reactivii. Dispozitivele construite pentru aplicarea acestor metode de analiză sînt caracterizate prin simplitate din punct de vedere mecanic și siguranță în funcționare. Deasemenea anumite caracteristici importante ale metodelor de analiză în flux, cum ar fi viteza de efectuare a analizelor și reproductibilitatea determinărilor sînt foarte ridicate.

Folosirea mini- sau microcalculatoarelor pentru a dirija, a controla și a diagnostica aparatura folosită, precum și pentru a prelucra datele experimentale obținute, a ridicat și mai mult performanțele analizelor în flux, multe dintre acestea putînd funcționa în regim cîmplet automat.

Analizările în flux pot fi utilizate pentru efectuarea determinărilor analitice "on line" sau "off line".

În varianta "on line" analizorul în flux este plasat chiar lângă locul de unde se prelevează probele de analizat. Astfel, probele pot fi luate (în general automat) dintr-un flux industrial, un bioreactor, un canal de scurgere a apelor reziduale etc. Analiza începe imediat după luarea probei, rezultatul analizei fiind obținut într-un timp scurt de

la cîteva zeci de secunde la maximum cîteva minute. Procedîndu-se în acest mod, rezultatele analizelor se obţin în timp "real" putîndu-se acţiona eficient, ori de cîte ori este necesar. Analizările în flux "on line" sînt în general analizoare dedicate analizei unor anumite specii chimice, pentru anumite domenii de concentraţii. Aceste analizoare, în general, trebuie să aibă o construcţie mai robustă şi aceasta datorită locului în care funcţionează şi în care pot fi trepidaţii, variaţii mari de temperatură etc.

În varianta "off line" analizorul în flux este plasat la o anumită distanţă de locul de luare al probelor, într-un laborator. Probele recoltate din diferite puncte sînt aduse la laborator pentru efectuarea analizei. Între prelevarea probei şi efectuarea analizei poate trece un timp lung (ore sau chiar zile) ceea ce deseori constituie un mare inconvenient.

Mai există o modalitate de efectuare a determinărilor în flux şi anume "in line". În acest caz un parametru, sau o anumită specie de analizat dintr-un flux industrial sînt determinaţi cu ajutorul unui sensor introdus în fluxul respectiv. Totuşi acest mod de operare are aplicaţii restrînse (cu excepţia măsurării temperaturii) întrucît este foarte dificil de a realiza calibrarea sensorului respectiv, suprafaţa sa poate fi acoperită cu impurităţi prezente în flux şi nu pot fi folosiţi reactivi pentru a realiza reacţii de dozare.

Lucrarea se adresează în primul rînd studenţilor din anul V al facultăţii de chimie, secţia de chimie analitică şi specializarea biochimie, pentru care în planul de învăţămînt sînt prevăzute cursuri cu acest profil. Deasemenea lucrarea se adresează absolvenţilor facultăţii de chimie, doctoranzilor şi tuturor specialiştilor interesaţi într-un domeniu de vîrf al chimiei analitice reprezentat de metodele automate de analiză în flux.

1. METODE AUTOMATE DE ANALIZA

1.1. Introducere

Introducerea automatizării în laboratoarele analitice a determinat o modificare foarte importantă a activității de laborator. Aceasta în primul rând datorită folosirii pe scară largă a computerelor, care au devenit indispensabile, constituind principala legătură dintre analist și aparatele sau instrumentele folosite.

Automatizarea este importantă cel puțin sub trei aspecte și anume:

1) Automatizarea instrumentelor analitice. Controlul automat al diferiților parametrii de lucru ai unui instrument, precum și al achiziționării și tratării datelor, îmbunătățește foarte mult performanțele acestuia. Automatizarea a facilitat de asemenea apariția și dezvoltarea unor noi tehnici instrumentale cum ar fi: tehnici spectroscopice ce utilizează detectori de imagine, tehnici spectroscopice cu transformată Fourier etc.

2) Activitatea de cercetare și dezvoltare. Au crescut mult performanțele și siguranța în determinarea structurii unor molecule organice sau anorganice folosind sisteme de recunoaștere a formelor spectrale, bazate pe utilizarea unor programe complexe ce sînt rulate pe computere de mare capacitate. Computerele sînt de foarte mare ajutor atunci cînd este necesar de a fi prelucrate date experimentale foarte numeroase utilizînd calcule matematice complexe și de asemenea la optimizarea unor metode analitice, ușurînd stabilirea unor noi metodologii analitice.

3) Activitatea din laboratoarele de control analitic. Introducerea automatizării în laboratoarele cu acest profil este recomandată în primul rând datorită numărului în general mare de determinări analitice ce sînt efectuate, precum și în unele cazuri, de necesitatea obținerii rezultatului într-un timp foarte scurt (de exemplu la controlul unor procese industriale, sau la efectuarea unor analize medicale pentru pacienți aflați în stare critică). Aparatura automată de analiză este necesară pe scară mare și pentru controlul poluării mediului.

Implementarea automatizării pe scară din ce în ce mai largă în laboratoarele analitice poate fi explicată ținînd seama de mai mulți factori și anume:

- Automatizarea proceselor analitice este un rezultat al progreselor deosebite realizate în micromecanică, microelectronică

și în construcția de microcomputere. microcomputerele au devenit o prezență obișnuită în laboratoare, fiind utilizate atât pentru operații de rutină, cât și pentru cercetare și dezvoltare.

- Societatea umană în dezvoltarea ei are nevoie nu numai de mult mai multe informații analitice, care să fie obținute din ce în ce mai rapid, dar în plus laboratoarele sînt solicitate să rezolve probleme analitice noi, care în urmă cu cîțiva ani nici nu se imaginau. O serie de domenii de interes social (industrie, ecologie, alimentație, ocrotirea sănătății) solicită analiza unui număr din ce în ce mai mare de probe, din care este necesar să fie determinat un număr mare de specii chimice, la concentrații din ce în ce mai mici. Realizarea de produse noi și rezolvarea unor probleme ce nu au mai fost anterior întîlnite, practic nu se poate face fără aportul chimiei analitice.

- Eforturile pentru reducerea costurilor constituie o altă explicație a utilizării pe scară din ce în ce mai mare a automatizării în chimia analitică. Reducerea participării umane în procesele analitice reduce costurile economice și crește performanțele obținute. Este important de menționat că studiile efectuate indică că automatizarea proceselor analitice nu determină de fapt o reducere efectivă a personalului necesar, deoarece numărul din ce în ce mai mare de probleme ce apar și trebuie rezolvate necesită o extindere a laboratoarelor existente și chiar înființarea unor noi. Aceasta necesită o recalificare a personalului, sau chiar angajarea unui număr suplimentar de oameni.

În prezent nu se poate vorbi de existența unor laboratoare total automatizate, o serie de sarcini intelectuale și manuale fiind efectuate în prezent numai de către personalul uman. Numărul acestor sarcini va scădea probabil în timp, dar este puțin probabil ca ele să dispară complet.

Automatizarea în chimia analitică oferă avantaje de necontestat. Din acest motiv nu este deloc de mirare că pentru dotarea laboratoarelor cu aparatură automată se investesc fonduri considerabile.

La introducerea automatizării în laboratoarele analitice poate să apară în anumite cazuri o atitudine refractară, aceasta explicîndu-se prin teama de schimbare și de complicațiile pe care le poate aduce. O atitudine complet opusă apare atunci cînd, din teama de a rămîne în urmă din punct de vedere al dotării tehnologice sînt achiziționate, fără nici un discernămint, instrumente cu un înalt grad de automatizare (de exemplu spectrometre sau sisteme electroanalitice dotate cu microprocesoare) abandonîndu-se instrumentele con-

venționale, care sînt în stare perfectă și adecvate necesităților practice. Se întîmplă deasemenea să fie achiziționate analizoare automate ce permit efectuarea unui mare număr de determinări, într-un timp foarte scurt și care să fie exploatate numai la o fracțiune din posibilitățile lor.

Introducerea automatizării în laboratoarele analitice se poate face, fie achiziționînd noi instrumente, sau prin adaptarea celor deja existente, completîndu-le cu module noi. De exemplu determinarea aminoacizilor în hidrolizatele proteice necesită utilizarea unui nou aparat bazat pe folosirea HPLC cunoscut sub numele de "sequencer". Totuși în numeroase cazuri, una sau mai multe etape analitice pot fi automatizate prin utilizarea unor elemente modulare, ce sînt disponibile. Astfel un sistem FIA adaptat la un spectrometru convențional reduce considerabil participarea umană în etapele intermediare (luarea probelor, îndepărtarea interferențelor, transportul la detector etc.). Incorporarea "on line" a unui integrator electronic sau a unui microcomputer permite înregistrarea semnalelor analitice date de detector, precum și tratarea lor adecvată în vederea obținerii rezultatelor, participarea umană limitîndu-se la programarea computerului.

1.2. Definiții ale unor noțiuni legate de procesele analitice și automatizarea acestora

Prin definițiile date mai jos se urmărește clarificarea a o serie de concepte corelate atît cu procesele analitice, cît și cu automatizarea acestora. În literatura de specialitate sînt numeroase concepte, procese, noțiuni, care sînt denumite asemănător. Din acest motiv este util de a stabili o distincție clară, ierarhică între astfel de termeni utilizați confuz și uneori incorect. Definițiile date mai jos pentru termenii de proces analitic, tehnică analitică, metodă analitică și procedeu analitic sînt preluate din lucrarea lui Taylor [1].

a) Proces analitic. Este constituit din seria de operații analitice executate asupra probei de analizat pînă la obținerea rezultatelor. Procesul analitic implică de obicei o mare varietate de etape care pot fi sumarizate în trei grupe principale și anume:

- operații preliminare
- măsurarea și convertirea semnalului analitic
- achiziționarea și tratarea datelor

Operațiile preliminare constituie grupa de operații analitice, de obicei, cea mai complexă și variabilă. Operațiile preliminare constau în principiu din luarea și tratarea probei, fiind în funcție de starea de agregare a acesteia. Astfel de operații sînt: dizolvarea

sau dezagregarea, centrifugarea, filtrarea, concentrarea în soluții absorbante etc., efectuarea unor separări în vederea eliminării interferențelor, precum și efectuarea reacției analitice și transportul amestecului de reacție la sistemul de detecție.

Măsurarea semnalului analitic se face cu ajutorul detectorului utilizat (optic, electrochimic etc.). De obicei semnalul dat de detector este convertit în semnal electric (atunci când nu este el însuși un semnal electric) care este mult mai ușor de prelucrat și amplificat.

Achiziționarea și tratarea datelor se face cu ajutorul unui microcomputer care poate efectua nu numai operațiile menționate, dar datele obținute le poate trece la un computer central care dirijează și controlează executarea operațiilor analitice la nivelul unui mare laborator industrial sau clinic.

b) Tehnică analitică. Un principiu științific adaptat la unul sau mai multe instrumente cu scopul de a obține informații despre diverse materiale și aspectele metodologice corespunzătoare. De exemplu: volumetria, flamfotometria, coulometria sînt tehnici analitice.

c) Metodă analitică. Aceasta este aplicarea concretă a unei tehnici analitice în procesul analitic. Astfel, în analiza gravimetrică, etapa de precipitare poate fi efectuată în modul obișnuit, sau prin precipitare în mediu omogen; atomizarea în spectrofotometria de absorbție atomică poate fi efectuată prin aspirarea soluției probei în flacără, sau prin vaporizare electrotermică.

d) Procedeu analitic. Termenul trebuie utilizat numai pentru a ne referi la un grup de instrucțiuni precise, care trebuie urmărite în implementarea unei metode analitice, cu scopul de a determina unul sau mai mulți analiți într-un anumit tip de probă.

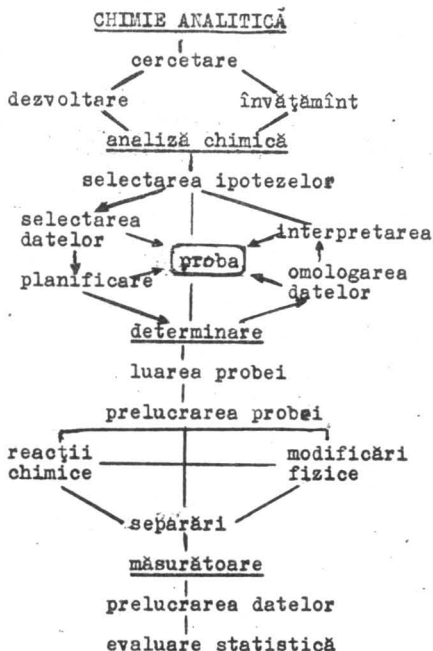
"Analiză", "determinare" și "măsurătoare" sînt deasemenea termeni ce sînt ușor de confundat. Aceștia pot fi definiți într-un mod ierarhic, după cum indică Pardue [2].

Analiza chimică este una din cele patru componente principale ale chimiei analitice, celelalte trei fiind: cercetare, dezvoltare și învățămînt.

Determinarea este una din etapele analizei chimice, care implică deasemenea investigarea unor necunoscute, o componentă a acestora fiind chiar proba de analizat.

Măsurătoarea este o subetapă a determinării, aceasta din urmă implicînd deasemenea luarea probei, prelucrarea probei, efectuarea unor separări, achiziționarea datelor și tratarea acestora.

Probele sînt analizate, analiții sînt determinați și parametrii calitativi sau cantitativi legați de aceștia sînt măsurați. Corelațiile dintre analiză chimică, determinare și măsurătoare sînt prezentate în schema de mai jos.



Comisia IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) pentru nomenclatură analitică a stabilit o serie de definiții legate de principalele aspecte ale metodelor automate de analiză [3]. Nu toate instrumentele, sistemele sau metodele concepute de a reduce, sau a înlocui intervenția umană în cursul unei analize pot fi privite ca automate. Astfel comisia IUPAC face distincție clară între mecanizare, instrumentare și automatizare.

Mecanizarea este corelată cu producerea de mișcare, instrumentarea cu producerea și transmiterea informației și automatizarea cu utilizarea sistemelor în care este incorporat un element de decizie care nu este de natură umană. Dăm mai jos definițiile următorilor termeni:

Mecanism: "O combinație de părți, din care cel puțin una este mobilă, capabilă de a produce un efect".

Mașină: "Un dispozitiv, incluzînd unul sau mai multe mecanisme,

care poate fi făcută să producă un lucru util".

Mecanizare: "Utilizarea dispozitivelor mecanice, pentru a înlocui, a rafina, a extinde sau a suplimenta efortul uman".

Instrument: "Un dispozitiv utilizat pentru observarea, măsurarea sau comunicarea stării unei însușiri, care înlocuiește, rafinează, extinde sau suplimentează capacitățile umane". (Un instrument poate include unul sau mai multe mecanisme și/sau mașini).

Instrumentare: "Utilizarea instrumentelor"

Termenii de aparat și instrument sînt deseori utilizați incorect sau sinonim. Principala diferență dintre aceștia o constituie faptul că se produce sau nu informație. Astfel o centrifugă este un aparat, în timp ce un fotometru este un instrument. Deși o centrifugă ne poate indica o valoare analogă sau digitală a vitezei de rotație, această valoare nu se referă la concentrația analitului și deci nu este considerată o informație. Absorbanța sau transmitanța citite la un fotometru poate fi considerată informație, deoarece se referă la concentrația analitului.

Automat: "Avînd dispozitive pentru a acționa singur sau pentru a seregla, ceea ce determină ca anumite acțiuni ce trebuie executate în momente date ale unei operații să fie făcute fără intervenție umană"

Automatizare: "Utilizarea de combinații de dispozitive mecanice și instrumentale pentru a înlocui, a rafina, a extinde sau a suplimenta efortul și capacitățile umane în realizarea unui anumit proces, în care cel puțin o operație majoră este controlată, fără intervenția umană, cu ajutorul unui sistem feedback.

După recomandările IUPAC trebuie făcută o distincție clară între instrumentele, aparatele sau dispozitivele automate (automatic devices) și aparatele și dispozitivele automatizate (automated devices)

Dispozitivele automate sînt acelea care permit executarea unor anumite acțiuni în anumite puncte ale unor operații fără intervenția umană. Sistemul nu ia nici o decizie, iar succesiunea de operații este totdeauna aceeași. Acestea nu posedă un sistem feedback.

Dispozitivele automatizate sînt definite ca acele dispozitive care permit implementarea propriu-zisă a automatizării. Ele sînt concepute pentru a lua decizii cu ajutorul unui sistem feedback, fără intervenție umană. Aceste sisteme sînt cu autocomandă, se reglează singure, au mai multă independență decît aparatele automate și sînt uneori numite drept "aparate complet automate".

O serie de cercetători deși recunosc exactitatea acestor definiții, totuși consideră că ele sînt prea restrictive. Foarte frecvent termenul de automat este utilizat atît pentru dispozitivele ce posedă

un sistem feedback, cît și pentru acelea fără un asemenea sistem.

În cele ce urmează vom folosi termenul de automat în înțelesul său cel mai larg, referindu-ne la dispozitivele ce contribuie la eliminarea parțială sau completă a intervenției umane pentru executarea unor operații analitice.

1.3: Obiective ale automatizării proceselor analitice

Obiectivele de bază ale automatizării proceselor analitice sînt următoarele:

- analiza unui mare număr de probe,
- determinarea mai multor componenți în aceeași probă,
- reducerea intervenției umane:
 - pentru a evita erorile,
 - pentru a reduce costurile,
- creșterea rapidității analizelor,
- analiza de proces (industrial sau de alt tip)
- reducerea consumului de probă sau/și de reactiv,
- facilitarea unei tehnici sau metode analitice.

Obiectivele automatizării proceselor analitice prezentate mai sus au ca scop rezolvarea a o serie de probleme corelate cu unul sau mai multe aspecte[4]:

- 1) probele de analizat, care pot fi foarte numeroase, în cantitate foarte mică sau prea valoroase pentru a fi manipulate manual,
- 2) substanțele analizate (analizii) care sînt prezente uneori în concentrații foarte diferite (macrocomponenți sau ultraurme) în proba de analizat,
- 3) reactivii, unii dintre ei sînt greu de procurat, sînt scumpi (enzime) sau sînt instabili,
- 4) rapiditate, esențială de multe ori în laboratoarele mari, cum sînt cele ale spitalelor, care în unele cazuri cer foarte urgent rezultatele analitice (pacienți în stare de criză acută sau stare de șoc) și în laboratoarele industriale sau de alt tip, care necesită numeroase date analitice pentru un control de proces,
- 5) economie de personal și de materiale consumabile,
- 6) precizie, strîns corelată cu eliminarea erorilor sistematice și întâmplătoare ce apar datorită așa numitului "factor uman" (oboseală, indispoziție, boală etc.)
- 7) generarea datelor. Anumite tehnici analitice sînt bazate pe obținerea unui mare număr de date. Chiar dacă acestea sînt generate cu o viteză ce permite înregistrarea lor de către un operator manual, natura obositoare a acestei operații, recomandă ca ea să fie efectua-

tă de un sistem automat. Acest lucru este obligatoriu atunci cînd datele sînt furnizate cu mare viteză (de exemplu în cazul metodelor în flux stopat).

8) prelucrarea datelor este efectuată mai bine în mod automat, atunci cînd un mare număr de date sînt generate de către aceeași probă sau mai multe probe diferite, sau cînd tratarea lor ulterioară este complexă și susceptibilă de erori, dacă este implicată participarea umană.

9) tehnica sau metoda analitică, în anumite cazuri neadekvată cu implicarea unui operator. Astfel spectrometria de absorbție atomică cu vaporizare electrotermică necesită automatizarea tratamentului termic al probelor în tubul de grafit, cu ajutorul unui microprocesor ce programează diferitele etape de încălzire (automatizarea metodologiei).

1.4. Clasificarea analizatoarelor automate

Un analizor automat poate fi definit ca un dispozitiv constituit dintr-o serie de elemente, modulare sau nu, dintre care cel puțin unul este un instrument, care operează cu diferite grade de automatizare și a fost proiectat pentru determinarea calitativă și cantitativă a unuiu, sau mai mulți analiți dintr-o singură probă sau mai multe pe baza variației unor proprietăți fizice, chimice sau fizico-chimice. Acesta poate furniza rezultate sub forma dorită sau poate oferi date brute [5].

Tabelul 1.1.

Clasificarea analizatoarelor automate

După gradul de automatizare	Automate Semiautomate
După modul în care probele și reac-tivii sînt transportați	Analizoare ale unor probe discrete (batch analysers) Analizoare în flux: - în flux segmentat, - în flux nesegmentat
	Analizoare robotice.
După numărul de analiți determinați din probă	Monoparametrice Multiparametrice
După flexibilitate	Specifice Flexibile
După proveniență	Comerciale De producție proprie
După starea de agregare a probei	Analizoare de gaze, de li-chide și de solide
După principiul de funcționare	Bazate pe principii fizice, Bazate pe principii fizico-chimice
După frecvența probelor analizate	Funcționare periodică, con-tinuu.

În tabelul prezentat se indică mai multe clasificări ale analizatoarelor automate în funcție de o serie de criterii. Astfel o primă clasificare se bazează pe gradul de automatizare, parțială sau completă

Un analizor total automatizat este definit ca un dispozitiv analitic ce poate primi una sau mai multe probe netratate, fără a fi cântărite, sau fără a li se măsura volumul și furnizează un rezultat analitic în forma dorită, fără a fi necesară intervenția operatorului în nici un punct din etapele intermediare ale procesului analitic. Dacă oricare din etape este efectuată manual, cazul cel mai obișnuit, analizorul se numește semiautomat. Termenul semiautomat nu este însă susținut de IUPAC.

Diferențierea automat - semiautomat este întrucâtva restrictivă, iar în practică termenul de automat este aplicat și analizatoarelor în care anumite etape importante sînt efectuate manual. Astfel este cazul analizatoarelor centrifugale, ce au un înalt grad de computerizare, dar la care modulul ce conține probele de analizat și reactivii este transferat manual de la unitatea de dozare automată la unitatea de măsură a produsului de reacție.

Analizoarele mai pot fi clasificate în funcție de modul în care probele și reactivii sînt transportați și manipulați (fig. 1.1.)

a) Analizoare ale unor probe discrete (batch analysers) în care fiecare probă își păstrează integritatea sa într-un vas (container) care este transportat mecanic în diferitele zone ale analizorului și în care sînt efectuate diferitele operații analitice (măsurarea volumului probei, diluarea, introducerea reactivilor, amestecarea, încălzirea etc.). Fiecare probă este în final transportată la detector la care se efectuează măsurătoarea.

b) Analizoarele în flux sînt caracterizate prin utilizarea unui flux continuu de lichid (sau mult mai rar de gaz). Probele, de obicei lichide, sînt introduse pe rînd, la intervale regulate de timp, într-un canal prin care circulă un lichid, canal ce poate avea puncte de confluență cu alte canale ce transportă reactivi, soluții tampon, agenți de mascare etc. După ce fluxul ajunge la detector, în general dotat cu o celulă în flux, amestecul de reacție furnizează un semnal analitic care este înregistrat. Acest semnal variază în timp (este tranzient) iar concentrația analitului se determină din înălțimea sau suprafața semnalului înregistrat.

Analizoarele în flux segmentat (SFA) au fost realizate de Skeggs [6] în anul 1957. Pentru acest tip de analizor fluxul este segmentat cu bule de aer, care au rolul de a micșora amestecarea segmentelor alăturate de lichid și în acest mod de a evita contaminarea

ada 309/1992 Fete. 2

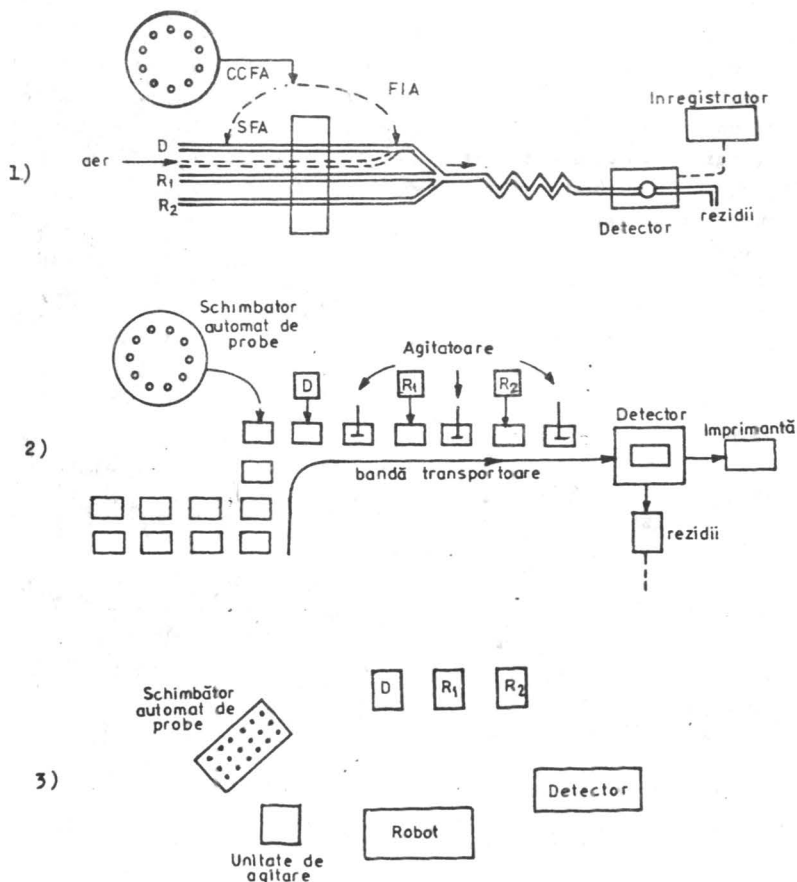


Fig.1.1. Schemele de principiu ale diferitelor tipuri de analizoare automate, clasificate în funcție de modul în care este efectuat transportul probei. Exemplele ilustrează determinarea unui singur analit într-o probă lichidă ce necesită diluare (D) și introducerea secvențială a doi reactivi (R₁ și R₂). 1) Analizor al unor probe discrete; 2) Analizoare în flux (SFA, flux segmentat; FIA, injectare în flux; CCFA, flux complet continuu). 3) Stații robotice [4].

probelor adiacente. Bulele de aer sînt eliminate din flux înainte de efectuarea măsurătorii [7, 8].

Analizoarele în flux nesegmentat pot fi clasificate în funcție de modul în care probele sînt introduse în flux, în analizoare prin injectare în flux (FIA) [9, 10, 11] și analizoare în flux complet continuu (CCFA) [12]. În cazul primului tip de analizoare probele de analizat sînt injectate (inserate) în flux, cel mai frecvent cu ajutorul unei valve de injectare. În cazul celui de al doilea tip de analizoare discutat mai sus probele de analizat sînt introduse în mod continuu în fluxul transportor.

Analizoarele robotice sau cum se mai numesc "stații robotice" utilizează miniroboți ale căror mișcări sînt similare cu cele ale unui operator uman. Cu ajutorul unui braț mobil prevăzut cu un sistem de prindere, minirobotul transportă proba de analizat la diferitele aparate și instrumente la care se execută operațiile analitice. Un microprocesor controlează mișcările robotului și operațiile executate la diferitele aparate și instrumente. Semnalele furnizate de acestea sînt apoi prelucrate pentru a obține rezultatele analizelor [13].

După numărul de analiți ce sînt determinați într-o probă, analizoarele pot fi clasificate în uniparametrice (de exemplu analizoarele centrifugale) și multiparametrice. Ultimele sînt de o utilitate deosebită în analizele clinice, ce necesită de obicei determinarea a mai mulți parametri în fluide biologice. SMAC, un analizor produs de firma Technicon permite determinarea pînă la 20 de parametri (analiți) pe probă. Unii cercetători utilizează însă nomenclatura mai veche și anume termenii de monocanal și multicanal, aceasta deoarece primele analizoare în flux segmentat disponibile comercial, Technicon, AutoAnalysers efectuau o determinare pe canal. De aici echivalența între canal și parametru.

După gradul de flexibilitate analizoarele sînt clasificate în:

a) Analizoare specifice ce permit determinarea unui singur analit sau a mai multora în același tip de probă. Adaptarea acestora la alte tipuri de probe nu este posibilă de obicei, sau necesită modificări majore. Sînt realizate astfel de analizoare pentru determinarea carbonului, sulfului, azotului și oxigenului din diferite tipuri de materiale.

b) Analizoare de o concepție flexibilă, ce sînt caracterizate de posibilitatea de adaptare la diferite necesități (tipuri de probe sau analiți) prin schimbarea unuia sau a mai multor elemente modulare.

După starea de agregare a probelor analizate analizoarele sînt clasificate în analizoare pentru gaze, lichide și solide. Un analizor

pentru probe solide este în general mult mai complex decât unul pentru probe lichide sau gazoase, cu excepția cazului când funcționarea sa se bazează pe măsurători fizice directe. Cântărirea este dificil de automatizat în toate cazurile, cu excepția analizatoarelor robotice. Deasemenea celelalte operații preliminare cum ar fi: dizolvarea, dezagregarea, extracția etc. sînt greu de automatizat. Analiza unor probe lichide și gazoase este relativ ușor de automatizat. Analizările de gaze sînt mai frecvent întrebuintate la controlul unor procese industriale și al poluării.

În funcție de principiul de funcționare și natura semnalului măsurat. Funcționarea analizatoarelor poate fi bazată pe principii fizice, chimice și fizico-chimice.

Analizările bazate pe măsurarea unei proprietăți fizice: densitate, indice de refracție, conductibilitate termică, susceptibilitate magnetică etc., sînt caracterizate prin simplitate, dar prin lipsa selectivității. Analizările a căror funcționare este bazată pe principii fizico-chimice și chimice sînt mai mult utilizate și oferă avantaje certe față de cele din prima categorie. De exemplu sînt mai selective.

După numărul de probe analizate:

- analizoare pentru determinări sporadice,
- analizoare cu utilizare periodică, serii de probe primite din cînd în cînd. Sînt foarte adecvate pentru analizele clinice,
- analizoare cu funcționare continuă. Sînt reprezentate în mod obișnuit de analizările de proces. Semnalele generate continuu de acestea sînt utilizate la reglarea unor procese industriale. Asemănătoare sînt și analizările pentru controlul continuu al poluării aerului sau apelor.

După sursă, analizările pot fi clasificate în comerciale și de construcție proprie. Sînt foarte numeroase firme care produc și livrează o mare varietate de analizoare automate. Dintre analizările automate, analizările FIA sînt dintre puținele care pot fi construite relativ ușor de către un chimist analist.

În cele ce urmează vom prezenta numai analizările automate în flux a căror scheme de principiu sînt prezentate la punctul 2, fig.11.

1.5. Dezavantajele automatizării.

Avantajele deosebite ale automatizării proceselor analitice au fost ilustrate în partea precedentă în care s-a vorbit de obiectivele automatizării. Cu toate avantajele sale, eliminarea parțială sau completă a intervenției umane în procesele analitice poate duce la o serie de dezavantaje majore și minore, care trebuie luate în conside-

derare, atunci cînd se hotărăște automatizarea unui anumit proces analitic [4, 8]..

Un prim dezavantaj al automatizării este acela că cu cît un proces analitic este mai automatizat, cu atît este mai redus contactul chimistului cu acesta. Aceasta determină o reducere sau chiar o eliminare a controlului continuu a fiecărei probe de către chimist, iar datorită acestui fapt operatorul nu mai poate obține o serie de informații despre probă, care în anumite cazuri pot fi deosebit de importante. În plus această lipsă de contact necesită o mai frecventă etalonare a analizorului și deasemenea este un mai mare risc al apariției unor inversiuni între probele analizate și rezultatele obținute.

Aprecieri deosebită de care se bucură înlocuirea efortului uman, atît din punct de vedere fizic, cît și intelectual în realizarea unor operații analitice, afectează negativ atitudinea operatorilor, a chimiștilor analiști, care pot supraestima posibilitățile reale ale automatizării, ceea ce generează o încredere exagerată în aparatele automatizate. Aceasta poate influența negativ planificarea anumitor operații analitice efectuate în laborator. De obicei cumpărătorii potențiali nu au o imagine completă asupra caracteristicilor și posibilităților mării majorități a analizoarelor comerciale. Deasemenea nu studiază cu atenție, suficient de profund aceste aspecte. Pentru a complica lucrurile, producătorii au tendința de a supraestima produsele lor și de obicei nu fac cunoscute și limitele lor, a căror cunoaștere este la fel de importantă ca și a performanțelor.

Ușurința cu care pot fi obținute datele, precum și încrederea exagerată în acestea pot duce deasemenea la o evaluare necritică a rezultatelor. Bunul simț trebuie să fie mai important decît datele furnizate de computer. În anumite cazuri greșelile se pot sesiza ușor. În alte cazuri erorile sînt mult mai greu de depistat, și nu pot fi sesizate decît de un chimist analist cu experiență.

Automatizarea unei tehnici analitice, în anumite cazuri, poate duce la o îngustare a domeniului de aplicare al acesteia, în special în ceea ce privește activitatea de cercetare. În plus aparatele automatizate, în ciuda aspectului lor schimbat - un panou de comandă și un ecran care înlocuiesc o serie de butoane și cadrane - sînt foarte frecvent concepute pentru determinări de rutină, astfel că unele performanțe uzuale ale modelelor mai vechi sînt pierdute.

Bibliografie

1. Taylor, J. K., Anal. Chem., 1983, 55, 600A
2. Pardue, H. D. and Woo, J., J. Chem. Educ., 1984, 61, 409.
3. International Union of Pure and Applied Chemistry, Analytical Chemistry Division, "Compendium of Analytical Nomenclature", Pergamon Press, Oxford, New York, 1978, p. 22 .

4. Valcarcel, M. și Luque de Castro, M.D., "Automatic Methods of Analysis", Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, 1988.
5. Vaňs, J., "Gas and Liquid Analysers", in Wilson's and Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry, vol XVII, Svehla, G., (Ed.) Elsevier, Amsterdam, 1982.
6. Skeggs, L, Am. J. Clin. Path., 1957, 28, 311.
7. Furman, W. B. (Ed.), "Continuous Flow Analysis. Theory and Practice" Marcel Dekker, New York, 1976.
8. Foreman, J.K. and Stockwell, P.B., "Automatic Chemical Analysis", Ellis Horwood, Chichester, Halstead Press, Wiley, New York, 1975.
9. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., "Flow Injection Analysis", Wiley, New York, 1981, 2-nd edition 1988.
10. Valcarcel, M. și Luque de Castro, M.D., "Flow Injection Analysis. Principles and Applications", Ellis Horwood, Chichester, 1987.
11. Burguera, L.J. (Ed.) "Flow Injection Atomic Spectroscopy", Marcel Dekker, New York, 1989.
12. Goto, M., Anal. Chem., 1983, 2, 92.
13. Hawk, C.L. și Strimaitis, J. (Eds), "Advances in Laboratory Automation, Robotics - 1984, and Ibid-1985. Zymark, Hopkinton, MA, USA, 1985 și 1986.

2. METODE AUTOMATE DE ANALIZA IN FLUX. PRINCIPII GENERALE SI CLASIFICAREA METODELOR AUTOMATE DE ANALIZA IN FLUX

Analizoarele automate în flux sînt caracterizate prin faptul că transportul probelor și reactivilor de-a lungul sistemului de analiză este efectuat de către un flux de lichid sau gaz ce curge prin tuburi drepte sau în spirală formînd o instalație specifică.

În sistemul respectiv proba și reactivii se pot amesteca în diferite moduri, putînd fi efectuate o serie de operații intermediare, de la simpla oprire a fluxului, la încorporarea unor unități de separare continuă (dializoare, extractoare etc.). Aceste tipuri de analizoare au de asemenea sisteme de detecție continuă, prevăzute cu celule în flux. Anumite tehnici, cum ar fi spectrofotometria de absorbție atomică, nu necesită celule în flux. Semnalul furnizat de sistemul de detecție, a cărui dependență de timp este determinată de modul de operare utilizat, este înregistrat grafic (în mod obișnuit) sau de către un microprocesor. Anumite caracteristici ale acestor semnale, cum ar fi înălțimea picului, lățimea acestuia sau suprafața pot fi corelate cu concentrația analitului.

Din punct de vedere constructiv aceste analizoare se aseamănă cu cromatografele de gaze sau lichide, deși principiul lor de funcționare este total diferit. De asemenea ele diferă de analizoarele automate ale unor probe discrete în privința modului în care probele sînt transportate și amestecate cu diluanții și reactivii, a modului în care este evitată contaminarea reciprocă a probelor adiacente, precum și în privința tipului de detector utilizat (se utilizează un detector în flux). Aceste diferențe duc la altele (concepție, cost aplicabilitate etc.)

În tabelul 2.1 se prezintă o clasificare a metodelor automate de analiză în flux. În cazul analizoarelor automate în flux segmentat (SFA) se evită contaminarea probelor adiacente prin utilizarea unor bule de aer ce determină o separare fizică (segmente) de-a lungul fluxului. Această metodă este aplicată de exemplu la analizoarele în flux produse de firma Technicon (S.U.A.).

Metodele de analiză în flux nesegmentat sînt caracterizate prin absența bulelor de aer din flux și printr-o mai mare simplitate tehnică. Modul în care se evită interacțiunea parțială a probelor adiacente diferă de la caz la caz. Astfel în cazul analizei prin injectare în flux (FIA) probele sînt introduse secvențial prin injectarea sau inserarea unui volum predeterminat într-un flux neîntrerupt de reactiv, sau flux purtător. În cazul metodelor cinetice în flux stopat, probele sînt injectate simultan cu reactivul, iar amestecul de reacție este transportat

Tabelul 2.1

Clasificarea metodelor automate de analiză în flux

În funcție de faptul dacă fluxul conține sau nu bule de aer	În funcție de introducerea probei		După natura fluxului	Denumirea
	După modul de introducere al probei	În funcție de timp		
Segmentat	aspirare	secvențial	continuu	Analiza în flux segmentat (SFA)
Nesegmentat	injectare	secvențial	continuu	Analiza prin injectare în flux (PIA)
- -	- -	- -	discontinuu	Metode cinetice în flux stopat
- -	aspirare	continuu	continuu	Analiza în flux complet continuu (CCPA)
- -	- -	secvențial	- -	- -
- -	- -	- -	discontinuu	Analiza în flux cu dispersie controlată (CDPA)

cu mare viteză la celula de măsură, unde fluxul este stopat atât cât durează detecția. Întreaga operație analitică, incluzând colectarea datelor durează foarte puțin, câteva sutimi sau miimi de secundă. Aceste metode sînt de obicei folosite pentru efectuarea unor studii fizico-chimice.

În cazul metodelor în flux complet continuu (CCPA) probele și reactivii sînt aspirați continuu în flux, neapărînd nici a discontinuitate datorită injectării, schimbării probelor, sau opririi fluxului.

În unele metode în flux nesegmentat bazate pe aspirarea secvențială continuă a probei, aceasta este introdusă pînă la obținerea unui semnal stabil, după care este înlocuită cu altă probă, apărînd astfel o discontinuitate deosebindu-se în acest mod de metodele complet continue.

Sînt de asemenea metode în flux nesegmentat bazate pe aspirarea discontinuă a probelor, introducerea secvențială a probelor

fiind efectuată prin stoparea periodică a fluxului. În aceste așa numite "metode în flux cu disperie controlată", pomparea intermitentă are același rol ca valva de injectare din cazul metodelor în flux nesegmentat.

Primele metode de analiză în flux au fost propuse de Skeggs în anul 1957 și acestea au fost metode de analiză în flux segmentat cu bule de aer. Contaminarea probelor adiacente a fost prevenită în acest caz prin introducerea intermitentă a unor bule de aer. Pe baza cercetărilor lui Skeggs au fost fabricate analizoare în flux segmentat, care au fost comercializate masiv de către firma Technicon (sub numele de AutoAnalysers) de firma Skalar și de altele,

Pentru mulți ani aceste tipuri de analizoare au fost singurele aparate automate de analiză în flux.

Cercetările ulterioare au dovedit însă că bulele de aer nu sînt absolut necesare pentru realizarea unui sistem automat de analiză în flux. Analizoarele automate în flux fără bule de aer, cum ar fi cele bazate pe principiul analizei prin injectare în flux, sau analizoarele în flux complet continuu au o serie de avantaje față de cele în care se utilizează un flux segmentat.

3. METODE DE ANALIZĂ ÎN FLUX SEGMENTAT (SFA)

3.1. Schema generală a unui analizor în flux segmentat. Principii generale ale analizei în flux segmentat

În anul 1957 profesorul Skeggs a descris o metodă de analiză în flux, schema unui analizor bazat pe acest principiu fiind prezentată în fig. 3.1.

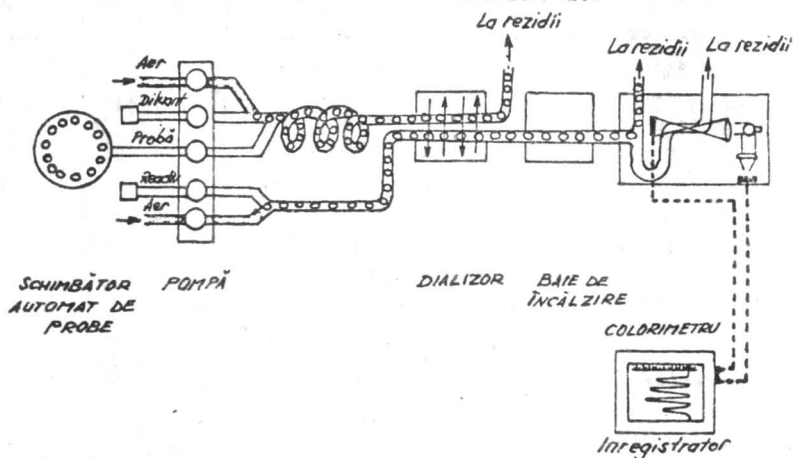


Fig. 3.1. Schema de principiu a unui analizor în flux segmentat

analizoare de acest tip au fost fabricate și comercializate de firma Technicon din S.U.A. sub numele de Autoanalysers. În prezent sînt disponibile comercial o mare varietate de astfel de analizoare, produse de numeroase firme. Acestea sînt mult mai complexe decît schema prezentată în fig. 3.1. și permit analiza a mai multor componente din aceeași probă, folosindu-se cîte un canal pentru fiecare component. Au fost realizate analizoare cu 12 și chiar 16 canale, funcționarea lor fiind dirijată cu ajutorul unui calculator. Astfel de aparate își găsesc aplicații deosebite în laboratoarele în care se efectuează un mare număr de analize. De exemplu în laboratoarele de analize medicale sau de control al poluării mediului.

Firma Technicon produce analizoare în flux segmentat, în special pentru analize medicale ale unor fluide biologice, iar firma Skalar (Olanda) pentru determinarea unor poluanți din ape.

Analizoarele în flux segmentat pot efectua toate etapele de bază ce apar într-o metodă de analiză cantitativă. Acestea includ

pipetarea probelor și reactivilor, amestecarea, încălzirea la o anumită temperatură, detecția produsului de reacție și afișarea rezultatelor. În plus pot fi incluse: digerarea probelor, extracția cu solvenți urmată de separarea fazelor, îndepărtarea unor substanțe interferente (proteine) prin dializă etc. Cea mai utilizată metodă de detecție este cea colorimetrică, deși detecția se poate face și fluorimetric, nefelometric, flamfotometric, prin măsurarea indicelui de refracție, amperometric, potențiometric etc., lărgindu-se astfel mult aria de aplicabilitate.

Spre deosebire de metodele de analiză ale unor probe discrete, în care probele și reactivii se introduc în vase separate, câte unul pentru fiecare probă analizată și în care are loc reacția analitică, în cazul analizelor în flux segmentat se efectuează o pompă a probelor și reactivilor printr-un sistem de tuburi. Fluxul de lichid circulă la diferitele unități ale analizorului, în fiecare efectuându-se o anumită operație analitică.

O altă deosebire față de metodele de analiză manuale și metodele de analiză automate ale unor probe discrete o constituie faptul că nu se pipetează volume absolute, dat în schimb lichidele utilizate (probe de analizat și reactivi) sînt amestecate în raporturi foarte bine definite. Aceste raporturi sînt stabilite de obicei prin utilizarea unor tuburi cu diametre diferite pentru o pompă peristaltică cu viteză de rotație constantă.

Probele de analizat sînt aspirate secvențial în analizor, cu un mic volum de lichid de spălare, ce le separă între ele. În flux sînt introduse și bule de aer, rezultînd un flux de lichid segmentat cu bule de aer. Pentru ca segmentele de lichid rezultate să fie cît mai egale între ele este necesar de a folosi și un agent de amestecare (un detergent) dizolvat în lichidul respectiv. Observarea vizuală a acestui flux de lichid cu bule de aer este importantă, deoarece el ne furnizează o verificare vizuală a fluxului de lichid și ne poate da indicații privind buna funcționare a analizorului.

Bulele de aer au mai multe funcții importante și sînt esențiale pentru acest tip de analizor. Ele umplu complet partea interioară a tubului și ajută la păstrarea integrității fiecărui segment de lichid, constituind o barieră între acestea. Ele reduc contaminarea între probele succesive, deoarece presiunea bulei de aer pe pereții interiori al tubului îndepărtează picăturile de lichid de la proba precedentă, care ar putea contamina pe cea următoare. Acest lucru permite utilizarea unui volum mai mic de apă de spălare între probe, cîștigîndu-se astfel timp. Totuși bulele de aer din flux nu pot îndepărta filmul de lichid care se formează pe suprafața interioară a tubului

și care determină o contaminare a probelor adiacente.

Bulele de aer ajută deasemenea la amestecarea lichidului din fiecare segment, datorită frecțiunilor pe perete, care inițiază o curgere mai mult turbulentă decât laminară, chiar la viteze mici ale fluxului.

Atunci când două fluxuri segmentate cu bule de aer ajung la un punct de confluență, fiecare segment de lichid rezultat se formează prin amestecarea a cîte unui segment de lichid din fiecare flux. Pentru o bună amestecare a acestora, fluxul este trecut printr-o spirală de sticlă a cărei circumferință trebuie să fie de cel puțin trei ori mai mare decât lungimea segmentelor de lichid. În timpul trecerii prin spirală, fiecare segment de lichid este rotit în mod repetat, permițînd ca stratul mai dens să se amestece cu stratul mai puțin dens.

Determinarea cantitativă în analiza în flux segmentat se bazează pe compararea directă a înălțimilor semnalelor înregistrate pentru proba etalon de diferite concentrații cu cele corespunzătoare probelor de analizat.

Măsurătorile efectuate cu acest tip de analizor se execută în condițiile, atât ale unui echilibru fizic, cît și chimic. Echilibrul fizic se realizează prin omogenizarea segmentelor de lichid ce conțin probele și reactivii. De asemenea reacția analitică trebuie să ajungă la un echilibru, înainte ca amestecul de reacție să ajungă la detector, cu excepția determinărilor bazate pe viteze de reacție. Astfel de determinări sînt deci necinetice, iar semnalul înregistrat trebuie să fie constant pentru un anumit interval de timp. Cu toate că nu sînt metode cinetice, metodele SFA sînt dinamice, deoarece deplasarea în flux este un fenomen fizico-cinetic ce trebuie luat în considerare. De asemenea trebuie subliniat faptul că analizoarele SFA în anumite cazuri permit efectuarea unor măsurători și atunci cînd reacția nu ajunge la echilibru, deoarece etaloanele și probele de analizat se măsoară după același interval de timp.

3.2. Părțile constitutive ale unui analizor în flux segmentat.

La primele tipuri de analizoare SFA, fiecare operație analitică se efectua într-un modul separat, modulele fiind cuplate prin tuburi de legătură. Forma și aspectul modulelor pot diferi în funcție de producător, dar ele efectuează de fapt aceeași operație analitică. În analizoarele SFA de fabricație mai recentă diferitele operații nu se execută neapărat în module separate, în aceeași unitate putînd fi efectuate mai multe operații.

Părțile constitutive principale ale unui analizor SPA sînt următoarele:

- schimbătorul automat de probe,
- sistemul de generare a fluxurilor de lichid și a bulelor de aer,
- sistemul de transport și de reacție, conectori, reactori, sisteme de separare a speciilor de analizat și alte componente,
- detectorul.

Schimbătorul automat de probe.

Se folosește de obicei un schimbător automat de probe care poate conține pînă la cîteva zeci de cupe în care se introduc probele de analizat. Fiecare probă este aspirată prin introducerea unei sonde, de obicei metalică, conectată la un canal al pompei peristaltice, un anumit interval de timp, în vasul în care se găsește o probă de analizat sau lichidul de spălare. Volumul de probă aspirat va depinde de diametrul tubului pompei peristaltice și de timpul de aspirare.

Sistemul de generare a fluxurilor de lichid și a bulelor de aer. Fluxurile de probă, diluant, reactivi și aer se obțin de obicei cu ajutorul unei pompei peristaltice cu mai multe canale, dar se pot realiza și cu ajutorul presiunii hidrostatice dată de o coloană de lichid, sau prin utilizarea presiunii unui gaz. Sistemele de generare a fluxurilor de lichid, pompele peristaltice și modalitățile de măsurare a debitelor de lichid sînt descrise la capitolul 4.4.1.

Se utilizează de obicei o pompă peristaltică pentru care viteza de rotație a rotelor este constantă. Pentru crearea unor fluxuri de probă și reactivi cu debite diferite se lucrează cu tuburi calibrate, cu aceeași grosime a peretelui, dar cu diametre diferite. Aerul se introduce în flux utilizînd un tub al pompei peristaltice cu un anumit diametru interior.

Este esențial ca pompa peristaltică să furnizeze debite de lichid constante pentru un set de determinări, orice variație a acestora ducînd la erori însemnate.

Sistemul de transport și de reacție, conectori, reactori, sisteme de separare a speciilor de analizat și alte componente.

Componentele pentru sistemul de transport și de reacție, conectorii și reactorii sînt asemănători cu cei prezentați în cazul analizei prin injectare în flux (capitolul 4.4.3.). Totuși este de remarcat o deosebire esențială față de analiza prin injectare în flux, unde se utilizează tuburi cu diametru sub 1 mm. În cazul SPA se utilizează tuburi cu diametru interior mai mare, de ordinul 2-3 mm. Aerul se introduce în fluxul de lichid folosind un canal al pompei

peristaltice și un dispozitiv special, care face ca bulele de aer să pătrundă în flux la intervale regulate de timp..

După punctul de confluență a două (sau mai multe) fluxuri de lichid este necesară folosirea unor spirale de amestecare (foarte frecvent acestea sînt făcute din sticlă) pentru a se asigura amestecarea completă a reactanților în cadrul fiecărui segment de lichid. Spiralele de amestecare se dispun de obicei orizontal. În figu 3.2 se prezintă schematic modul în care are loc amestecarea a două lichide la trecerea fluxului prin spirală. Rotirea repetată a segmentelor de lichid asigură o amestecare completă.

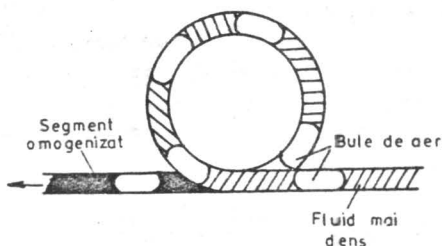


Fig. 3.2. Amestecarea a două lichide dintr-un segment la trecerea fluxului prin spirală.

Spiralele prin care circulă fluxul de lichid se utilizează în unele cazuri și pentru a prelungi timpul în care poate avea loc o reacție chimică.

Pentru conectare se utilizează de obicei tuburi de tygon. Totuși aceste tuburi nu sînt rezistente la soluții de acizi tari și la unii solvenți organici, la utilizarea unor astfel de lichide, folosindu-se tuburi din alte materiale (tabelul 4.2). Spiralele de amestecare se fac în special din sticlă, deoarece pentru acest material contaminarea reciprocă a probelor adiacente este mică.

Pentru fiecare metodă analitică aplicată se utilizează un montaj specific.

Unul din cele mai apreciate avantaje ale analizelor în flux îl constituie posibilitatea încorporării unor unități de separare continue, ce au o eficiență ridicată. Acestea largesc mult domeniul de aplicare al analizelor menționate, îmbunătățind două caracteristici esențiale ale unei metode analitice și anume selectivitatea și sensibilitatea (prin preconcentrare). O etapă de separare este în unele cazuri o parte esențială a unei metode analitice și poate fi: distilarea, dializa, extracția, difuzia gazelor prin membrane etc.

De exemplu peste 70% din analizoarele SPA aplicate la efectuarea de analize medicale sînt prevăzute cu un dialisor în flux. Prin dializă se pot separa substanțele de analizat de proteinele interferente, care în caz contrar pot afecta rezultatul analizei.

Schema unei unități de dializă utilizată în SPA este foarte asemănătoare cu cea utilizată la analiza prin injectare în flux (fig. 4.34). Prin unitatea de dializă circulă două fluxuri, un flux donor ce conține proba de analizat și un flux acceptor, de obicei o soluție salină sau soluția unui reactiv. Cele două fluxuri sînt separate de o membrană semipermeabilă, de exemplu din cellofan. Pentru un transfer optim cu o contaminare minimă între probele adiacente, cele două fluxuri trebuie să aibă o viteză egală. Viteza de dializă este funcție de concentrația moleculelor dializabile numai dacă toți ceilalți factori care afectează dializa sînt menținuți constanți. Deși transferul prin membrană nu este niciodată complet el este totuși constant, de obicei cuprins între 5 și 25%. Un factor mai greu de controlat este compoziția generală a probelor, care poate influența viteza de dializă a moleculelor de analizat. Aceasta poate da naștere la erori în cazul analizei probelor ce au concentrații foarte diferite ale proteinelor, sau mai frecvent, la utilizarea unor soluții etalon preparate în apă, la analiza unor probe ce conțin proteine.

Pentru realizarea unor separări prin difuzia gazelor prin membrane, se utilizează un montaj asemănător cu cel pentru dializă. Membrana utilizată are caracter hidrofob și este microporoasă. Foarte utilizate în acest scop sînt membranele de teflon. În fluxul probei pot fi generate în urma unor reacții chimice, o serie de specii în stare gazoasă, cel mai simplu prin variația pH-ului. Se pot forma astfel în mediu acid: HCN , CO_2 , SO_2 sau în mediu bazic NH_3 . Există de asemenea posibilitatea de a se determina gaze dizolvate ca de exemplu: O_2 , O_3 , Cl_2 și ClO_2 . Fluxul acceptor trebuie să conțină reactivi care să interacționeze cu gazele ce au difuzat prin membrană, pentru a se asigura reținerea lor rapidă.

Analizoarele SPA permit deasemenea executarea a numeroase alte tipuri de separări: prin distilare, schimb ionic, extracție cu solvenți etc.

Deși nu este necesar ca reacția de dozare să decurgă complet în cazul analizoarelor SPA, este însă necesar de a se genera suficient produs de reacție pentru a fi determinat și în funcție de tipul reacției, aceasta necesită fie timp, fie ridicarea temperaturii. Se folosesc de obicei spirale de sticlă cu lungimea de ordinul metrilor sau

chiar 10-15 m. Acestea sînt introduse în băi de ulei termostatare, care permit ca temperatura să fie reglată între 37 și 95 °C. Pentru temperaturi mai mari se utilizează băi ce conțin ulei siliconic.

Sisteme de detecție

În cazul analizelor SFA se pot utiliza numeroase sisteme de detecție. Cel mai folosit este cel fotometric, Sistemul de detecție trebuie să asigure o determinare continuă a unui parametru în fluxul de reacție, iar semnalul furnizat de acesta este fie redat sub formă grafică cu ajutorul unui înregistrator, fie este prelucrat de un microprocesor. Determinarea concentrației unei substanțe de analizat se face prin compararea înălțimii semnalelor corespunzătoare probelor de analizat cu cele ale unor probe etalon.

Deoarece bulele de aer prezente în flux nu permit o înregistrare continuă a unui semnal analitic ele trebuie eliminate înainte ca fluxul să ajungă la celula în flux, cu ajutorul unui montaj ca cel prezentat în fig. 3.3.

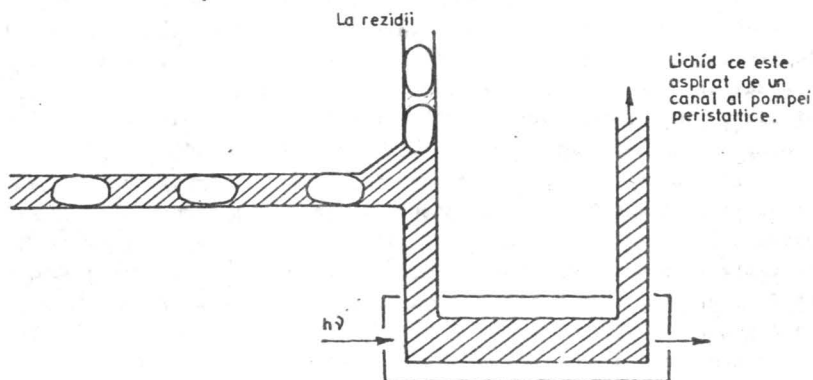


Fig. 3.3. Schema unei celule fotometrice în flux cu sistemul de îndepărtare al bulelor de aer.

Pentru a îndepărta eficient bulele de aer este necesar de a aspira lichidul prin celula în flux, utilizând un canal al pompei peristaltice. Debitul lichidului aspirat trebuie să fie ceva mai mic decât debitul total de lichid ce ajunge la celula în flux. Mica presiune de semn contrar ce rezultă face sistemul de eliminare al bulelor de aer mai eficient. În cazul ultimelor tipuri de analizare tehnicon bulele de aer nu sînt îndepărtate din flux înainte de efec-

tuarea detecției, deoarece sistemul lor computerizat de achiziționare al datelor permite o eliminare a semnalelor date de bulele de aer, măsurându-se selectiv numai absorbanta segmentelor de lichid.

Alte sisteme de detecție utilizate în cazul analizelor SPA sînt asemănătoare din punct de vedere al principiului de funcționare cu cele utilizate în cazul analizei prin injectare în flux și care sînt prezentate în cap. 4.4.4.

3.3. Principii teoretice ale analizei în flux segmentat.

3.3.1. Cinetica formării semnalului analitic

Semnalele înregistrate în cazul analizelor în flux segmentat prezintă anumite caracteristici, iar studiul dinamicii formării lor a arătat că este o corelație cantitativă între gradul de contaminare al probelor adiacente și parametrii cinetici ai analizorului. Acești parametrii pot fi determinați și sînt foarte utili pentru optimizarea funcționării unui analizor. Segmentarea cu bule de aer a fluxului reduce contaminarea reciprocă a probelor, constituind o barieră la amestecarea lor, dar totuși nu o poate preveni total, datorită filmului de lichid ce rămîne pe suprafața interioară a tubului după deplasarea unui segment de lichid. În orice caz contaminarea reciprocă a probelor adiacente apare mai ales în fluxul nesegmentat, înainte de introducerea bulelor de aer și în fluxul rezultat după îndepărtarea bulelor de aer înaintea detectorului în flux.

Studii privind corelarea cantitativă a gradului de contaminare a probelor adiacente cu parametrii cinetici ai analizorului sînt descrise într-o serie de lucrări [1, 2, 3].

Forma tipică a semnalului analitic înregistrat în cazul analizelor în flux segmentat este prezentată în fig. 3.4. O asemenea înregistrare se obține în urma trecerii prin celula detectorului în flux (după îndepărtarea bulelor de aer) a zonei ce conține amestecul de reacție. De o parte și de alta a acestei zone se găsește fie o soluție de reactiv, fie eventual o soluție de spălare. Se obține un semnal cu aspectul celui prezentat în fig. 3.4, numai dacă proba de analizat este aspirată un timp suficient de lung. Valoarea maximă a înălțimii curbei se poate obține pentru anumite condiții bine definite de lucru (viteza de pompare, concentrația reactivilor, temperatură, lungimea celulei în flux etc.).

După cum se vede din fig. 3.4 semnalul analitic prezintă o porțiune crescătoare, un platou (valoarea semnalului este staționară) și o porțiune descrescătoare. În mod ideal semnalul înregistrat ar trebui să fie un dreptunghi (prezentat punctat în figură) formînd unghiură

cda 309/1992 Jare. 3 .

drepte cu linia de bază.

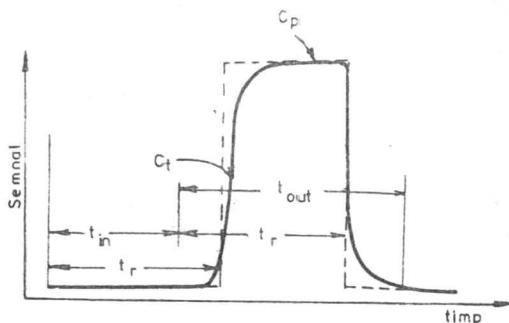


Fig. 3.4. Forma semnalului analitic înregistrat în cazul unui analizor în flux segmentat și parametrii curbei care îl caracterizează. t_r , timpul scurs între aspirarea probei și ajungerea acesteia la detector; t_{in} , timpul de aspirare al probei; t_{out} , timpul în care tubul de aspirare este în afara vasului cu probă și se aspiră aer sau soluție de spălare. Linia punctată indică forma ideală a semnalului analitic. C_t , concentrația analitului la o anumită valoare a timpului. C_p , concentrația analitului pe platoul curbei înregistrate.

Porțiunea crescătoare a semnalului analitic este descrisă de ecuația:

$$C_t = C_p(1 - e^{-t\chi}) \quad (3.1)$$

iar porțiunea descrescătoare de ecuația:

$$C_t = C_p e^{-t\chi} \quad (3.2)$$

unde C_t reprezintă concentrația corespunzătoare unui anumit timp, C_p reprezintă concentrația pe platoul semnalului înregistrat iar χ este o constantă dată de relația:

$$\chi = \frac{0.693}{t_{w1/2}}$$

$t_{w1/2}$ fiind timpul de semispălare, timpul necesar ca o anumită valoare a concentrației să scadă la jumătate.

Porțiunea descrescătoare a semnalului înregistrat este imaginea în oglindă, inversată, a porțiunii crescătoare.

Valoarea $t_{w1/2}$ se poate determina cel mai ușor din porțiunea descrescătoare a semnalului înregistrat, reprezentînd $\lg C_t$ în funcție

de timp. Se obține o curbă al cărui aspect este prezentat în fig. 3.5.

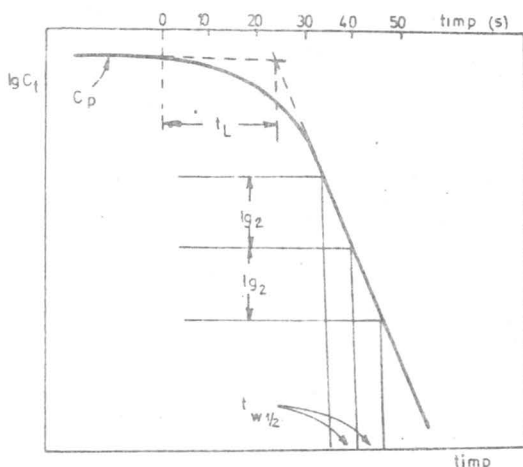


Fig. 3.5. Determinarea grafică a fazei de inițiere, t_L și a timpului de semispălare $t_{w1/2}$.

Valoarea $t_{w1/2}$ se poate calcula din panta porțiunii liniare a reprezentării. Porțiunea inițială, neexponențială, a reprezentării este numită fază de inițiere sau fază de lag. Valoarea acesteia se obține din punctul de intersecție al prelungirilor celor două porțiuni liniare ale curbei.

Datorită caracterului exponențial al porțiunii crescătoare și desorescătoare a semnalelor înregistrate are loc o anumită contaminare reciprocă a probelor adiacente.

3.3.2. Interacțiunea dintre probele adiacente

Contaminarea reciprocă a probelor adiacente în cazul analizărilor în flux segmentat poate să apară în trei părți ale acestora și anume:

- 1) Sistemul de aspirare. Tubul de aspirare poate fi contaminat, atât în exterior cât și în interior, de probele precedente (dacă nu se folosește un dispozitiv de spălare al acestuia).
- 2) Sistemul de curgere, care este cea mai frecventă sursă de contaminare a probelor. La deplasarea segmentelor de lichid rămâne un film static de lichid pe pereții interiori ai tubului, pe care bulele

de aer nu îl pot îndepărta și care va fi încorporat în segmentul următor de lichid contaminându-l.

3) În tubul ce conectează sistemul de îndepărtare al bulelor de aer cu celăla în flux. Cu toate că acesta are o lungime foarte scurtă, în porțiunea respectivă are loc o amestecare a probelor adiacente, datorită inexistenței unei separări fizice între probe. Lungimea acestui tub și diametrul său trebuie să fie cât mai mici, pentru a scădea la minimum difuzia axială.

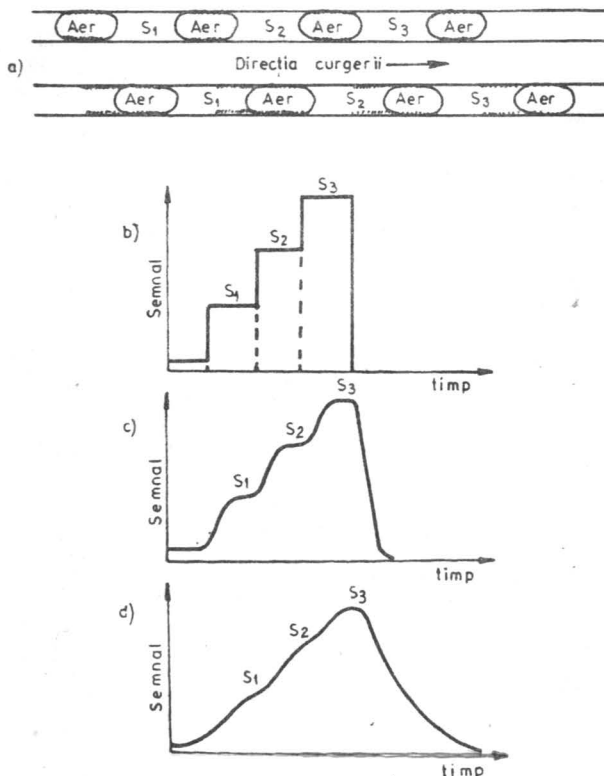


Fig. 3.6. Efectul interacțiunii dintre probele adiacente în cazul analizei în flux segmentat. a) Contaminarea probelor adiacente datorită filmului de lichid existent între bulele de aer și peretele tubului, b) Forma ideală a semnalelor înregistrate pentru trei probe S_1 , S_2 , S_3 , c) Forma semnalelor înregistrate pentru (continuare)

e interacțiune redusă a probelor adiacente, e) Intre probele adiacente este o interacțiune accentuată, iar semnalele analitice înregistrate nu pot fi utilizate pentru o determinare cantitativă.

Gradul de separare a probelor adiacente poate fi exprimat prin relația:

$$\phi = \frac{t_{bp} - t_L}{t_{w1/2}} \quad (3.3)$$

unde t_{bp} este timpul scurs între aspirarea a două probe succesive (inclusiv și timpul de aspirare al unui lichid de spălare, dacă acesta se folosește); t_L este timpul de inițiere (faza de lag) iar $t_{w1/2}$ este timpul de semispălare.

Cu cât t_{bp} este mai mare, iar t_L și $t_{w1/2}$ sînt mai mici, cu atât interacțiunea dintre probele adiacente va fi mai mică. O mare influență asupra factorului ϕ o are valoarea $t_{w1/2}$ deoarece aceasta este o măsură a pantei porțiunii crescătoare și descrescătoare a semnalului înregistrat pentru o probă.

Valoarea factorului $t_{w1/2}$ este corelată cu porțiunea nesegmentată a fluxului. Valoarea sa poate fi micșorată prin reducerea la minimum a lungimii tuburilor în care fluxul de lichid nu este segmentat cu bule de aer și prin creșterea cât mai mult a vitezei fluxului pe cîră prin tubul de legătură dintre punctul de îndepărtare al bulelor de aer și celula în flux.

Timpul corespunzător fazei de inițiere, t_L , este corelat în special cu fluxul segmentat, iar valoarea sa poate fi micșorată prin reducerea lungimii traseului străbătut de fluxul segmentat (inclusiv tuburi, spirale de amestecare, spirale de întîrziere). Valoarea sa depinde de raportul aer/lichid din flux, raport care trebuie menținut constant pentru întreg sistemul.

Gradul de suprapunere a semnalelor înregistrate pentru două probe adiacente poate fi evaluat în procente cu ajutorul relației:

$$\text{Suprapunere în \%} = 2^{-\phi} \cdot 100 \quad (3.4)$$

Pentru a reduce la minimum interacțiunea dintre probele adiacente s-a folosit o soluție de spălare, care a fost aspirată în sistemul de analiză între probele adiacente. S-a obținut astfel o succesiune de segmente de lichid separate de bule de aer, după înregistrarea semnalului pentru fiecare probă, valoarea acestuia tînzînd spre linia de bază (fig. 3.7).

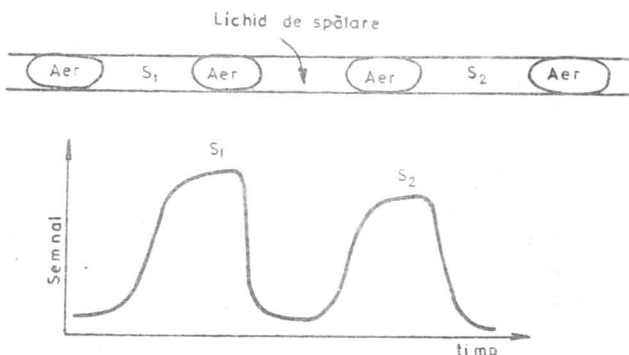


Fig. 3.7. Fluxul segmentat cu bule de aer și forma semnalelor înregistrate la folosirea unei soluții de spălare. S_1 și S_2 sînt probe de analizat.

Folosirea unei soluții de spălare determină o micșorare apreciabilă a contaminării probelor adiacente datorită:

- spălării tubului de aspirare, atît în exterior, cît și în interior,
- îndepărtării filmului de lichid rămas pe peretele tubului la trecerea zonei unei probe,
- formării unei zone de lichid (constituită din soluția de spălare) între probele adiacente, în porțiunea nesegmentată cu bule de aer a fluxului.

Se poate spune că și soluția de spălare lasă în urma sa un film de lichid aderent la suprafața interioară a tubului, care contaminează proba următoare. Această contaminare se manifestă înec asupra tuturor probelor analizate (atît etaloane cît și probe de concentrație necunoscută).

Evaluarea interacțiunii dintre probele adiacente se poate face cantitativ din valoarea semnalelor înregistrate pentru o probă de concentrație mică, urmată de o probă de concentrație mare și care este urmată în continuare de o probă de concentrație mică (cea inițială) [4]

$$\text{Interacțiunea procentuală} = \frac{S_2 - S_1}{S_3} \cdot 100 \quad (3.5)$$

unde valorile S_1 , S_2 , S_3 corespund înălțimii semnalelor înregistrate pentru cele trei probe menționate.

Este dificil de a aplica în practică un astfel de factor la toate rezultatele și din acest motiv este indicat de a alege atele

condiții de lucru pentru care interacția probelor adiacente este mică, La o frecvență ridicată a probelor analizate interacțiunea dintre acestea poate fi mare, pentru tipurile mai noi de analizare, un computer determină acest factor și îl utilizează pentru a corecta toate rezultatele, înainte de a le prezenta în forma finală.

Pentru a determina interacțiunea procentuală se poate proceda și în alt mod. Se analizează o probă de concentrație mare, X , de trei ori, obținându-se valorile X_1 , X_2 și X_3 . Apoi se analizează o probă de concentrație mică, Y , de trei ori obținându-se valorile Y_1 , Y_2 și Y_3 (fig. 3.8)

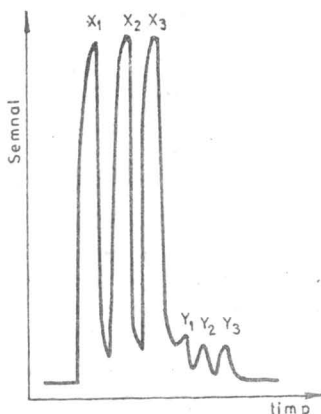


Fig. 3.8. Evaluarea interacțiunii dintre probele adiacente.

Interacțiunea procentuală va fi dată de relația:

$$\text{Interacțiunea procentuală (k)} = \frac{Y_1 - Y_3}{X_3 - Y_3} \cdot 100 \quad (3.6)$$

unde Y_3 se presupune că este valoarea corectă corespunzătoare probei Y , deoarece acest semnal este precedat de către două probe de concentrație egală, iar efectul interacțiunii reciproce este neglijabil.

Determinarea interacției procentuale, k , pentru diferiți timpi de aspirare a probei și a soluției de spălare permit evaluarea unei metode și stabilirea frecvenței maxime de analiză a probelor, pentru o anumită valoare admisă a interacției procentuale.

3.3.3. Durata unei determinări și factorii care afectează calitatea semnalului analitic

Durata unei determinări și respectiv numărul de determinări ce pot fi efectuate într-o oră sînt foarte mult influențați de timpul necesar ca semnalul analitic să ajungă la valoarea sa maximă, în vederea unei înregistrări grafice sau electronice.

O micșorare a duratei unei analize implică micșorarea lui t_{in} , timpul de aspirare al probei și a lui t_p , timpul cît proba stă în sistem (fig. 3.4). Valorile acestor mărimi nu pot fi reduse prea mult, deoarece nu va mai putea avea loc stabilirea echilibrului fizic și chimic în fiecare segment de lichid (lucru esențial în cazul analizei SFA).

Contaminarea reciprocă a probelor succesive este un alt factor care limitează frecvența probelor ce pot fi analizate. Folosirea unei soluții intermediare de spălare reduce numărul de probe ce pot fi analizate în unitatea de timp. Deasemenea valori mari ale fazei de inițiere, t_L (faza de lag) și ale timpului de semispălare $t_{wl/2}$ vor impune o creștere a volumului de probă introdus, reducînd deci frecvența determinărilor.

În general cu un analizor în flux segmentat pot fi analizate un număr de ordinul zecilor de probe într-o oră (în general sub o sută) acest număr fiind determinat atît de metodologia analitică folosită, cît și de performanțele analizorului. Nu este necesar ca în vederea efectuării unei determinări semnalul analitic înregistrat să ajungă la valoarea sa maximă. Pentru a mări frecvența determinărilor se alege o valoare a timpului de aspirare al probei, t_{in} , astfel încît să se ajungă la aproximativ 90% din valoarea maximă a semnalului analitic [4]. Acest timp de aspirare al probelor se determină experimental și va fi păstrat neschimbat, atît pentru aspirarea probelor de analizat, cît și a etaloanelor. Procedîndu-se în acest mod erorile în determinare vor fi minime. Deasemenea tot experimental se va alege valoarea timpului de aspirare a soluției de spălare, astfel încît interacțiunea dintre probele adiacente, ce poate fi calculată cu ajutorul relațiilor (3.5 și 3.6) să nu depășească o anumită valoare (pe care o considerăm admisă).

În fig. 3.9 se prezintă aspectul semnalelor înregistrate la efectuarea unei analize în flux segmentat pentru valori crescătoare ale timpului de aspirare a probelor și pentru o aceeași valoare a timpului de aspirare a soluției de spălare.

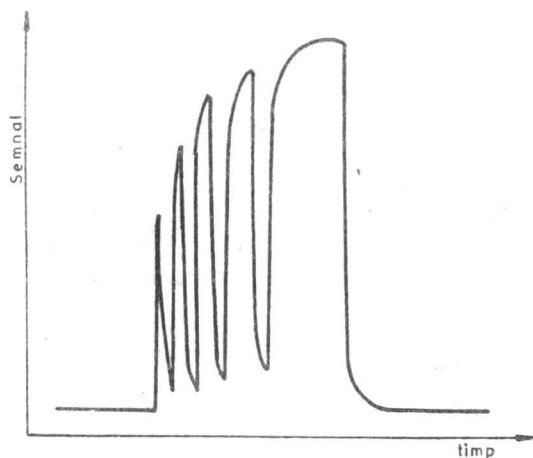


Fig. 3.9. Forma semnalelor înregistrate pentru valori crescătoare ale timpului de aspirare a probelor și aceeași valoare a timpului de aspirare a soluției de spălare.

Din fig. 3.9 se constată că pentru valori mici ale timpului de aspirare în flux a unei probe, se înregistrează numai o fracțiune din porțiunea crescătoare a semnalului ce corespunde unui timp. suficient de lung de aspirare al probei, astfel încât să se înregistreze și un platou. Înălțimea semnalelor înregistrate este reproductibilă, chiar și atunci când nu se înregistrează un platou, iar pentru mărirea frecvenței determinărilor se preferă de multe ori utilizarea unei valori a timpului de aspirare a probelor cât mai scurt.

Factorii care afectează calitatea semnalului analitic.

Pînă la acest punct a fost prezentată influența diferitelor variabile experimentale asupra funcționării unui analizor SFA. Este important în continuare de a prezenta modul în care influențează direct aceste variabile trei aspecte de mare importanță, strîns corelate cu calitatea semnalului analitic și deci cu performanțele analizorului. Aceste trei aspecte sînt:

- dispersia probei,
- amestecarea probelor cu reactivii,
- stabilitatea curgerii.

Dispersia probei. Constă în împrăștierea unei probe de-a lungul fluxului, în special ca rezultat al filmului staționar de lichid format pe pereții interior al tubului. Acest film de lichid reduce eficiența separării segmentelor de lichid de către bulele de aer. A fost studiată influența a o serie de variabile experimentale asupra disper-

siei probei [5 - 7], Aceste variabile sînt de următoarele tipuri:

a) variabile ale analizorului:

- diametrul tubului, d ,
- debitul, q ,
- timpul scurs între aspirarea probei și măsurarea semnalului analitic, t_r ,
- viteza de segmentare, n , exprimată ca număr de bule de aer ce trec prin tub într-o secundă,

b) variabile ale probei:

- vîscozitate, η ,
- tensiune superficială, γ ,
- coeficientul de difuzie ionică sau moleculară, D .

Dintre aceste variabile cea mai mare influență o au: debitul, diametrul tubului, viteza de segmentare, vîscozitatea și timpul scurs între aspirarea probei și măsurarea semnalului analitic. Dispersia probei este direct proporțională cu t_r , d și n , care trebuie să aibă o valoare cît mai mică. Dispersia probei variază invers proporțional cu debitul.

În general orice modificare a variabilelor menționate mai sus poate influența negativ o altă caracteristică importantă a analizelor în flux segmentat și anume frecvența probelor analizate.

În lucrările menționate anterior [5 - 7] se prezintă un model teoretic care a fost comparat cu rezultatele experimentale. A fost evaluată dispersia probei considerînd că semnalul înregistrat are un profil Gauss-ian. Lățimea semnalului înregistrat s-a exprimat sub forma deviației standard $\sqrt{v}$ ($8\sqrt{v}$ pentru un semnal cu platou și $4\sqrt{v}$ pentru semnale analitice ce nu au un platou). Dispersia poate fi corelată cu variabilele analizorului și ale probei prin relația:

$$\sqrt{v} = \left[\frac{538d^{2/3}(q + 0.92d^3\eta)^{5/3}\eta^{7/3}}{\gamma^{2/3}qD} + \frac{1}{n} \right] \left[\frac{2.35(q + 0.92d^3\eta)^{5/3}\eta^{2/3}t_r}{\gamma^{2/3}q^{4/3}} \right] \quad (3.7)$$

unde d este exprimat în cm, q în mL/s, n în bule de aer pe secundă, η în poise, γ în dyne/cm, t_r în s, D în cm/s și $\sqrt{v}$ în s.

Toate variabilele menționate mai sus trebuie optimizate, pentru a scădea lățimea picului (exprimată în unități) cît mai mult. Frecvența maximă a probelor analizate (exprimată în număr de probe analizate pe oră) ce poate fi atinsă fără o suprapunere a semnalelor este dată de: $3600/4\sqrt{v}$ ($900/\sqrt{v}$) pentru semnale cu platou și $3600/8\sqrt{v}$ ($450/\sqrt{v}$) pentru semnale fără platou. Numărul de probe analizate într-o oră poate fi mărit cu 20 - 30% fără a apare erori în determinări, deoarece o mică suprapunere a semnalelor în porțiunile inițiale și

finală nu influențează înălțimea semnalului analitic la valoarea sa maximă.

Amestecarea probelor cu reactivii.

Un principiu ce stă la baza funcționării analizatoarelor în flux segmentat constă în necesitatea omogenizării zonelor de fluid conținute între două bule de aer, zone formate din probă și reactivi (diluante). Acest echilibru fizic se atinge pe durata transportului probelor între punctul de aspirare și detector (timpul t_r). Doi factori importanți contribuie la omogenizarea fluidului în fiecare segment. Primul dintre aceștia constă în curgerea turbulentă determinată de compresibilitatea bulelor de aer din flux. Curgerea turbulentă favorizează amestecarea în fiecare segment de lichid.

Cel de al doilea factor ce contribuie la omogenizarea probelor cu reactivii este dispunerea în spirală a tuburilor (în care se urmărește în mod deosebit amestecarea lichidelor dintr-un segment). Aceasta favorizează difuzia radială datorită forței centrifuge și datorită rotirii repetate a segmentelor de lichid.

Factorii care influențează cel mai mult amestecarea eficientă în cazul analizatoarelor în flux segmentat sînt: diametrul tubului, diametrul spirei, lungimea segmentului de lichid, debitul, lungimea tubului și caracteristicile soluției (vîscozitate, densitate și coeficientii de difuzie ai diferitelor specii).

Necesitatea amestecării eficiente a probelor cu reactivii constituie una din limitările cele mai importante ale analizatoarelor în flux segmentat, care au nevoie de etalonări mai frecvente decît analizarele în flux ne-segmentat. Deasemenea analizarele în flux segmentat au nevoie de o perioadă de punere în funcțiune, "de încălzire" destul de lungă de ordinul 0,5 - 1 oră.

Stabilitatea curgerii

Pentru a obține rezultate corecte și reproductibile cu ajutorul unui analizor în flux segmentat este necesar ca acesta să funcționeze cu un profil stabil, regulat al curgerii. Toate segmentele de lichid sau de aer din flux trebuie să fie egale între ele.

Un caracter instabil al curgerii se poate datora următorilor factori: a) variații de debit, b) pulsații ale pompei peristaltice, c) variații de temperatură care duc la modificarea volumului bulelor de aer, d) impurități în tuburile prin care circulă reactivi sau proba de analizat etc. În general se poate spune că stabilitatea curgerii este cel mai puternic influențată de pompa peristaltică.

Bibliografie

1. Thiers, R. E., Cole, R.R. și Kirsch, W.J., Clin. Chem., 1967, 13, 451.
2. Wallace, V., Anal. Biochem., 1967, 20, 517.
3. Walker, W.H.C., Pennock, C.A. și McGowan, G.K., Clin. Chim. Acta, 1970, 27, 421.
4. Holme, D.J. și Peck, H., "Analytical Biochemistry", Longman, London, New York, 1983.
5. Snyder, L.R. și Adler, J., Anal. Chem., 1976, 48, 1017
6. Idem, ibidem, 1976, 48, 1022.
7. Snyder, L.R., J. Chromatogr., 1979, 173, 211.

3.4. Aplicații ale metodelor de analiză în flux segmentat

Metodele de analiză în flux segmentat au fost primele metode de analiză în flux realizate. Meritul inițierii acestei noi metodologii analitice revine profesorului Skeggs [1]. La scurt timp după apariția lucrării lui Skeggs firma Technicon (S.U.A.) a fabricat primele analizoare în flux segmentat disponibile comercial și care au avut un succes deosebit. Ulterior o serie de cercetători au dovedit că metoda de analiză în flux segmentat prezintă o serie de dezavantaje și au propus metode de analiză în flux nesegmentat cu bule de aer, cum ar fi analiza prin injectare în flux (PIA) care a cunoscut un succes deosebit. O comparație între cele două tehnici, în care se prezintă caracteristicile fiecăreia, precum și avantajele și dezavantajele lor este prezentată în cap. 4.1.2.2.

Un concurent important pentru analizoarele în flux segmentat îl constituie analizoarele automate ale unor probe discrete, care în anumite cazuri pot prezenta avantaje certe față de cele în flux segmentat. Totuși analizoarele în flux segmentat se fabrică și în prezent pe scară mare găsindu-și numeroase aplicații în practică, aceasta putând fi explicat în primul rând prin gradul de perfecționare tehnică la care au ajuns și care le face foarte sigure în funcționare.

Pe de altă parte este de menționat și faptul că metodele de analiză în flux segmentat, în anumite cazuri, se completează reciproc cu alte metode de analiză în flux și nu intră neapărat în competiție cu acestea.

Analizoarele în flux segmentat cu avantajele și dezavantajele lor au fost descrise în numeroase cărți dintre care menționăm [2 - 5].

Analizoarele în flux segmentat își găsesc aplicații deosebite la efectuarea de analize medicale (de altfel acesta este domeniul pentru care au fost fabricate încă de la început). Aceasta nu înseamnă însă că ele nu pot fi adaptate la alte tipuri de analize din domeniul farmacologiei, toxicologiei, analizei alimentelor sau pentru controlul unor procese industriale.

Firma Technicon fabrică analizoare în flux segmentat în special pentru analiza în scopuri medicale a unor fluide biologice, iar altă firmă importantă, Skalar (Olanda) fabrică analizoare SPA cu alte aplicații decât cele din domeniul medical, în special pentru controlul poluării mediului.

Majoritatea metodologiilor de lucru în cazul analizelor SPA realizează detecția prin absorbție moleculară în domeniul ultraviolet

și vizibil (70 - 75%) dar la o parte importantă dintre acestea detecția se face utilizând electroză ion selectivi (10 -15%). Mai rar se folosesc alte tehnici analitice pentru detecție cum ar fi amperometria, fluorimetria, nefelometria etc.

În cele ce urmează vom prezenta schema de principiu, reactivii folosiți, precum și principalele performanțe ale unor analizoare în flux segmentat utilizate la determinarea unor specii chimice de mare interes în practică. Vor fi prezentate mai întâi analizoare în care detecția se face prin măsurarea absorbției radiației, iar în continuare analizoare ce au la bază alte metode de detecție.

În fig. 3.10 se prezintă schema unui analizor folosit pentru determinarea amoniacului (amoniului) în apa de mare și apa de robinet.

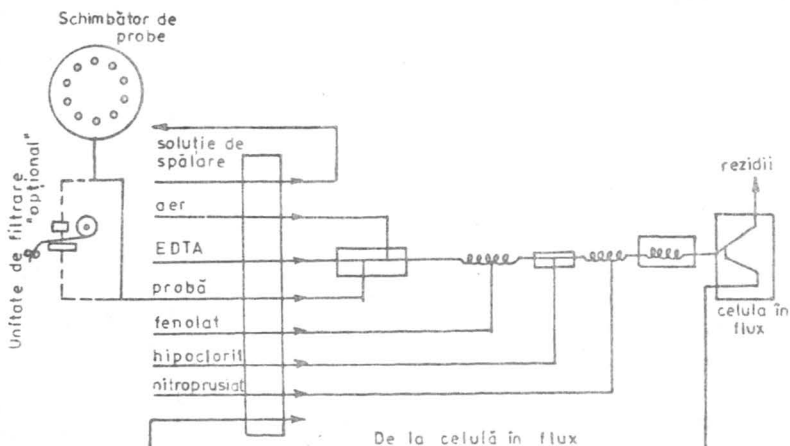


Fig. 3.10. Schema unui analizor în flux segmentat folosit la determinarea amoniacului.

Proba de analizat, care poate fi eventual filtrată dacă conține suspensii, este mai întâi amestecată cu o soluție de EDTA, care are rolul de a complexa ioni prezenți și care în continuare datorită mediului de reacție alcalin ar putea da naștere la precipitate. Fluxul ce conține proba este apoi amestecat cu fluxuri de fenolat de sodiu și hipoclorit, în final obținându-se colorantul albastru de indofenol, a cărui culoare este intensificată cu nitroprusiat. Pentru definitivarea reacției proba este încălzită la 50 °C înainte de a trece prin celula în flux a unui spectrofotometru. Determinarea absorbanței se face la 630 nm, iar lungimea celulei folosite este de 5 cm. Domeniul de deter-

minare este cuprins între 0,02 - 2 mg amoniac/mL, iar într-o oră pot fi analizate 60 de probe. [6].

În fig. 3.11 se prezintă schema analizorului firmei Skalar [7-9] pentru determinarea cianurilor totale din ape și probe de sol.

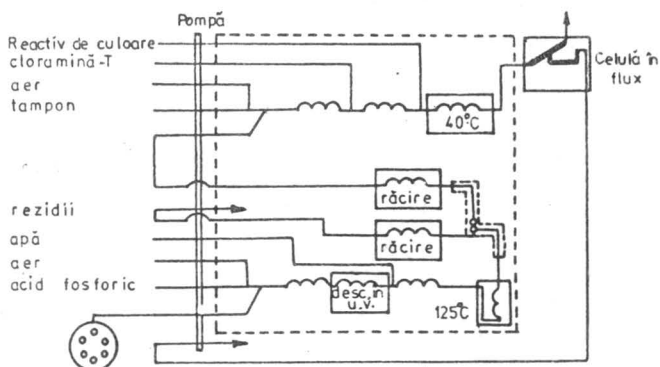


Fig. 3.11. Schema analizorului folosit pentru determinarea cianurilor totale din ape și probe de sol.

Proba de analizat este amestecată cu o soluție acidă și este trecută prin dispozitivul de descompunere în UV. Cianura liberă și legată prezentă în probă este transformată în acid cianhidric. Proba se diluează apoi cu apă distilată și se face distilarea la 125 °C. Acidul cianhidric este antrenat de aer și este introdus în sistemul de analiză colorimetrică. Prin reacția cu cloramină T, acid izonicotinic și acid barbituric se formează un compus colorat în albastru [10] a cărui absorbanță se măsoară la 600 nm folosind o celulă în flux cu lungimea de 5 cm. Limita de detecție este de 1 $\mu\text{g/L}$ iar domeniul minim de determinare este de 0 - 50 $\mu\text{g/L}$.

În fig. 3.12 se prezintă forma semnalelor înregistrate pentru etaloane (în dreapta) și pentru probe de analizat de diferite concentrații (în stânga).

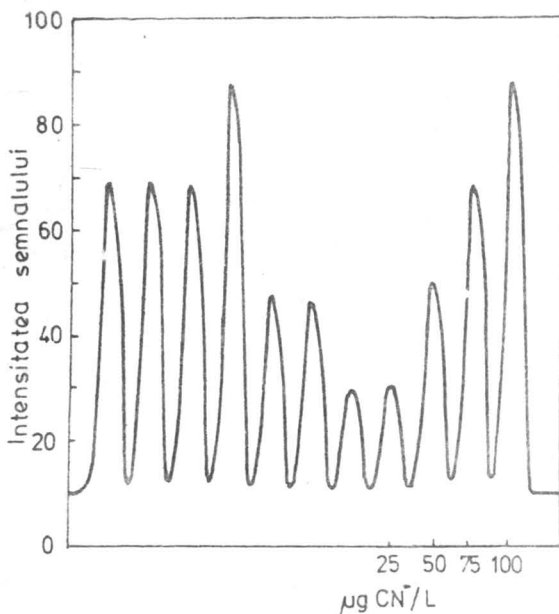


Fig. 3.12. Forma semnalelor înregistrate la de-
terminarea cianurilor din ape cu analizorul Skalar
SA20/40

Aplicarea analizorului în flux segmentat AutoAnalyzer II
(Technicon) pentru determinarea unor vitamine solubile în apă din
alimente

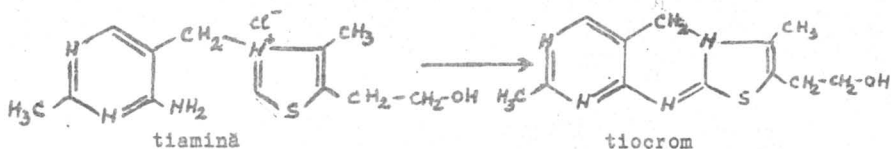
Determinarea tiaminei

Numeroasele metode de determinare ale tiaminei din alimente (metode biologice, microbiologice și chimice) sunt prezentate în lucrarea [11]. În general metodele chimice de analiză (colorimetrice, fluorimetrice, volumetrice) prezintă exactitate mai mare și sunt mai rapide decât metodele microbiologice sau biologice.

Dintre metodele chimice, metoda fluorimetrică bazată pe transformarea tiaminei în tiocrom urmată de măsurarea fluorescenței acestuia este metoda cea mai folosită fiind recomandată de: "Association of Official Analytical Chemists" (AOAC) din S.U.A. și este descrisă de asemenea în farmacopeea americană [12].

Procedeu fluorimetric manual de determinare a tiaminei, în care tiamina este oxidată de fericianură la tiocrom are următoarele etape: extracția cantitativă a tiaminei din probe într-o soluție apoasă acidă, digerarea enzimatică a extractelor cu clarasă și tahadiastază pentru a desăvârși eliberarea tiaminei din materialele proteice și din cocarboxilaze, absorbția cantitativă și selectivă a tiaminei libere pe o coloană ce conține un absorbant specific (Decalzo, Fischer Scientific Co.) eluarea cantitativă a tiaminei din coloană cu o soluție acidă de clorură de potasiu, oxidarea tiaminei la tiocrom utilizând o soluție alcalină de fericianură de potasiu, extracția tiocromului în izobutanol și măsurarea fluorescenței acestuia.

Oxidarea tiaminei la tiocrom are loc după următoarea reacție globală:



Această reacție este însă complexă, avînd o serie de etape intermediare [13] și din acest motiv în cazul metodei fluorimetrice manuale de determinare a tiaminei pot apare erori. O explicație a acestora constînd în variația unor condiții experimentale în care se fac determinările. Pentru a obține rezultate reproductibile este necesar un control strict al pH-ului, oxigenului dizolvat, temperaturii și concentrației de fericianură.

La utilizarea unei metode automate de analiză, condițiile experimentale caracteristice metodei de analiză a tiaminei bazată pe măsurarea fluorescenței tiocromului pot fi controlate precis, ceea ce permite determinarea reproductibilă și exactă a tiaminei dintr-o mare varietate de tipuri de probe.

Au fost descrise mai multe metode de analiză în flux segmentat ale tiaminei din alimente [14 - 16] și s-a făcut o comparație între rezultatele analitice obținute prin procedeele automate și cel manual. În toate cazurile procedeele de analiză în flux segmentat au dat rezultate mai bune decît procedeul manual. În continuare vom prezenta pe scurt procedeul simplificat, semiautomat de analiză a tiaminei din alimente descris de Defibaugh [16]. Procedeul de extracție a tiaminei din alimente și metoda propriu-zisă de analiză fluorimetrică sînt cele descrise anterior. Pentru a mări precizia determinărilor în toate cazurile, atît pentru etaloane cît și pentru probele de

Cda 309/1992 Anex. 4

analizat s-au preparat probe de comparație în care tiamina a fost descompusă utilizând enzima tiaminază. Introducând apoi cantități cunoscute de tiamină în probele tratate cu tiaminază s-a putut calcula un grad de recuperare al tiaminei de 99,3% cu o deviație standard de $\pm 3,13\%$ în cazul procedurii automat și de 91,2% cu o deviație standard de $\pm 8,92\%$ în cazul procedurii manual. Aceste rezultate au fost obținute la analiza unui număr de 14 produse alimentare comerciale.

Schema instalației folosite este prezentată în fig. 3.13.

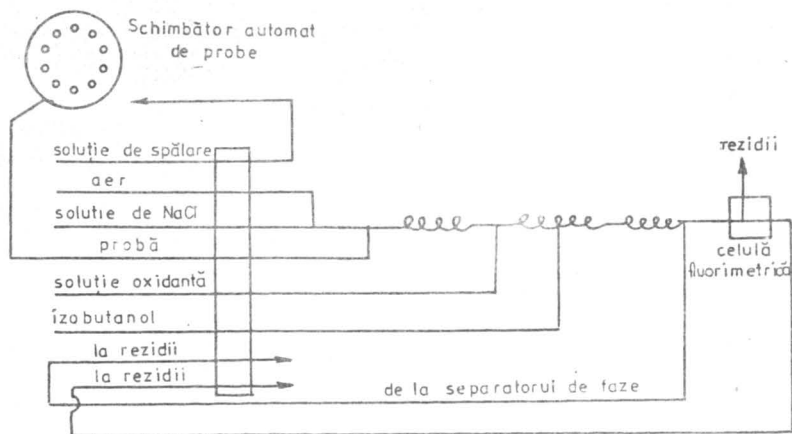


Fig. 3.13. Schema analizatorului în flux segmentat folosit la determinarea tiaminei din alimente.

Tiamina a fost extrasă din probele de analizat folosind procedeul manual descris la început [12]. Extractele filtrate au fost tratate cu izobutanol saturat cu apă pentru a îndepărta substanțele interferente. Au fost apoi analizate în duplicat: soluția etalon, proba de analizat, proba de comparație pentru soluția standard și proba de comparație pentru proba de analizat, obținându-se următoarele intensități relative ale radiației emise, I' , I , I'_b și I_b .

Cantitatea de tiamină prezentă în proba de analizat a fost calculată cu relația:

$$\mu\text{g tiamină/mL} = [(I - I_b)/(I' - I'_b)] \cdot C$$

unde C este concentrația de tiamină în soluția etalon ($\mu\text{g/mL}$).

Procedeul automat ce utilizează enzima tiaminază pentru prepararea probelor de comparație constituie o metodă rapidă și exactă de

determinare a tiaminei în alimente (cereale, legume etc.)

Determinarea acidului ascorbic

Numeroasele metode chimice de determinare ale acidului ascorbic din alimente pot fi clasificate în general în două grupe: metode de determinare ale formei reduse și metode de determinare ale acidului ascorbic total..

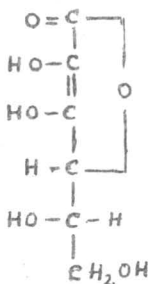
Metodele de determinare ale formei reduse a acidului ascorbic sînt bazate pe proprietățile oxido-reducătoare ale acestuia și de asemenea pe proprietatea sa de a se cupla cu derivați de anilină diazotați și a forma hidrazide colorate.

Acidul ascorbic total este determinat după oxidarea sa la acid dehidroascorbic urmată de o reacție de formare a unor hidrazone intens colorate sau a unui compus fluorescent.

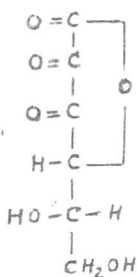
Deutsch și Weeks [17] au propus o metodă de analiză fluorimetrică sensibilă și specifică bazată pe condensarea acidului dehidroascorbic cu o-fenilendiamină, cînd se formează un compus fluorescent. Această metodă, care a fost aprobată de AOAC (Association of Official Analytical Chemists) constă în următoarele etape: Extracția probei cu soluție de acid metafosforic, oxidarea acidului ascorbic la acid dehidroascorbic (DHAA) prin agitarea extractelor cu cărbune activ, reacția o-fenilendiaminei cu DHAA cu formarea unui compus fluorescent, urmată de măsurarea fluorescenței la 430 nm, excitarea făcîndu-se la 350 nm. Probele de comparație au fost preparate prin adăugare de acid boric la probe, care în prealabil au fost tratate cu cărbune activ.

Metoda descrisă are o sensibilitate și specificitate înalte și prezintă interferențe reduse.

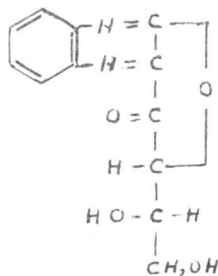
Formarea compusului fluorescent are loc conform reacției:



acid ascorbic



acid dehidroascorbic



derivat fluorescent

Prin reacție cu o-fenilendiamină acidul dehidroascorbic poate da naștere și la alți compuși, care însă nu sînt fluorescenți.

Dezavantajul major al metodei manuale de analiză a acidului ascorbic cu o-fenilendiamină este că reactivul este sensibil la lumină și utilizarea cărbunelui activ pentru oxidare nu este adecvată.

Kirk și Ting [18] au automatizat metoda fluorimetrică descrisă, înlocuind cărbunele activ cu un alt agent de oxidare și anume 2,6-dicloro-indofenol, excesul din acest reactiv fiind descompus cu o soluție de tiouree. Metoda automatizată a fost aplicată la determinarea acidului ascorbic și dehidroascorbic din sucuri de fructe, cereale, lapte și tomate. Metoda permite efectuarea a 50 de determinări într-o oră. Totuși la folosirea reactivului 2,6-dicloroindofenol în procedeul automatizat pe pereții interiori ai tuburilor pompei pot apare depuneri iar reactivul ca atare este instabil.

Rezultate mai bune s-au obținut la folosirea în procedeul automat de determinare a acidului ascorbic a N-bromosuccinimidei [19] drept agent de oxidare specific pentru acesta. Deasemenea în acest caz nu mai este necesară folosirea tioureei.

În fig. 3.14 se prezintă schema instalației folosite pentru determinarea acidului ascorbic, acidului dehidroascorbic și a acidului ascorbic total din alimente folosind drept agent de oxidare specific N-bromosuccinimida.

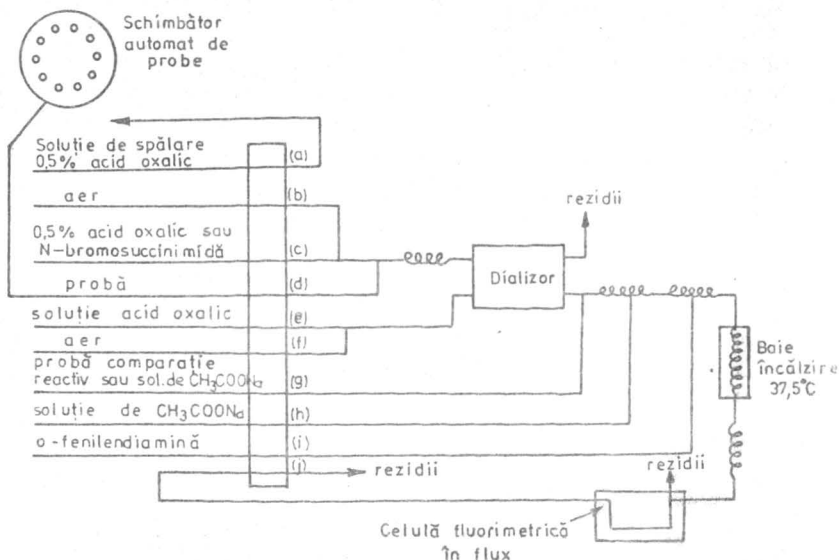


Fig. 3.14 Schema instalației folosite pentru determinarea acidului ascorbic, dehidroascorbic și vitaminei C totale din produse alimentare.

Sucurile limpede de fructe sînt analizate direct. Probele solide, legumele conservate și fructele sînt mai întîi omogenizate în prezență de acid oxalic iar apoi sînt filtrate. Se analizează o porțiune din soluția limpede obținută.

La începerea unei serii de determinări se pompează timp de 15 minute toți reactivii prin canalele analizorului pentru obținerea unui semnal stabil al detectorului. Inregistratorul și detectorul sînt astfel reglate încît să se obțină o valoare a răspunsului de 100% la utilizarea unei soluții etalon de vitamină C de 0,1 mg/mL.

Pentru determinarea acidului dehidroascorbic prin linia (c) se pompează o soluție de acid oxalic 0,5% iar prin linia (g) o soluție de acetat de sodiu 50%.

Pentru a determina conținutul total de vitamină C din probe, prin linia (c) se pompează o soluție de N-bromosuccinimidă. Pentru determinarea fluorescenței corespunzătoare reactivului ca atare (proba de comparație), prin linia (g) se pompează o soluție de reactiv.

Metoda permite efectuarea a 50 de determinări pe oră, iar rezultatele analitice obținute cu analizorul automat sînt în bună concordanță cu cele obținute folosind procedeul manual. Sensibilitatea metodei este de $2 \cdot 10^{-4}$ mg acid ascorbic/mL.

În fig. 3.15 se prezintă un analizor în flux segmentat folosit la determinarea glucozei și a zaharurilor reducătoare din produse naturale și artificiale [20].

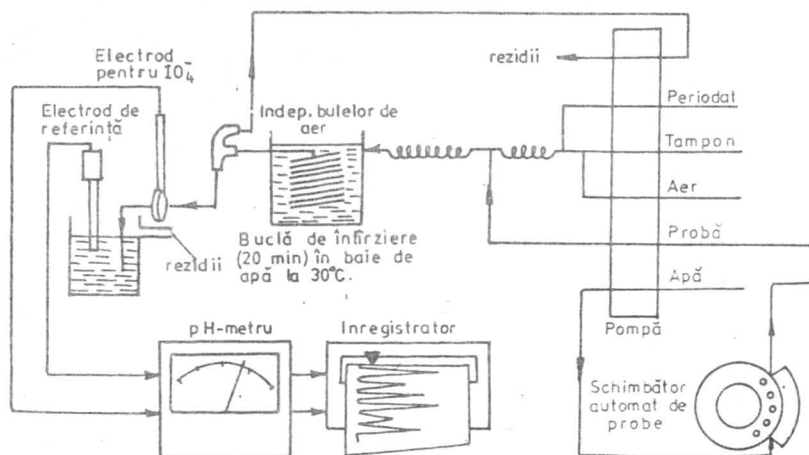


Fig. 3.15. Schema analizorului în flux segmentat folosit la determinarea glucozei și zaharurilor reducătoare din produse naturale și artificiale.

Proba de analizat este aspirată în sistem și este amestecată cu un flux segmentat cu bule de aer constituit dintr-un amestec de soluție de periodat și o soluție tampon. Periodatul reacționează selectiv cu α -diolii în condiții blinde rupind legătura C-C. Această reacție (reacția Malaprade) are loc într-o buclă de întârziere în timp de 20 de minute la 20 °C. După îndepărtarea bulelor de aer din flux se determină cu ajutorul unui electrod cu membrană selectiv pentru periodat, concentrația de reactiv rămas nereacționat. Analitul poate fi determinat în domeniul 3 - 18 mM.

Analizoare automate în flux segmentat cu mai multe canale.

Destul de frecvent este necesară determinarea mai multor analiți din aceeași probă, în special în cazul analizelor în scopuri medicale ale unor probe biologice. Funcționarea analizoarelor automate multicanal în flux segmentat este bazată pe următoarele principii de bază:

a) Volumul de probă aspirat este divizat între mai multe canale astfel încât o cotă parte cu volumul bine definit a probei aspirate este trecută prin fiecare canal,

b) Fiecare canal prezintă o unitate analitică independentă, prin care circulă toți reactivii necesari efectuării reacției analitice și care are deasemenea bucle de amestecare și de reacție, unități pentru executarea de separări etc., precum și propriul sistem de detecție în flux,

c) De regulă toate canalele au un sistem comun pentru achiziționarea și tratarea datelor, care trebuie să fie capabil de a discrimina semnalele și de a^{le} atribui corect analiților corespunzători. Discriminarea poate fi făcută în două moduri:

1) Prin ajungerea succesivă a semnalelor generate de diferiți detectori la sistemul de achiziționare și tratare al datelor. Acest lucru se poate realiza simplu prin folosirea unui debit de fluid și a unei lungimi pentru fiecare canal, astfel alese, încât semnalele analitice să fie generate succesiv, la anumite intervale de timp. Acesta este principiul de funcționare al AutoAnalyzer II (firma Technicon) capabil de a determina până la trei analiți dintr-o probă și al analizorului SMA 12/60 (Sequential Multiple Analyzer, Technicon) care are 16 canale (inclusiv patru pentru probe de comparație) și care poate analiza până la 60 de probe pe oră [21].

Sincronizarea celor douăsprezece semnale generate de probele de analizat în cazul analizorului SMA 12/60 necesită optimizarea foarte precisă a caracteristicilor unităților analitice utilizate, lucru care este făcut cu ajutorul unui osciloscop.

2) Prin ajungerea practică simultană a tuturor semnalelor la un sistem complex de achiziționare al datelor, care face discriminarea dintre acestea într-un mod continuu cu ajutorul unui microprocesor. Această variantă este aplicată la analizoarele Technicon, SMAC (Sequential Multiple Analyzer plus Computer) I și II, care sînt sisteme analitice complexe și scumpe și care pot determina pînă la 20 de parametri dintr-o probă la o frecvență a probelor analizate de 150 pe oră [21]. Acest tip de analizor are următoarele componente, toate acestea fiind dirijate în funcționarea lor de un calculator central.

a) Un schimbător automat de probe într-o configurație compactă ce conține un număr de 152 de vase în care pot fi puse probele de analizat. Dintr-un vâlam de probă aspirat de 450 μ L pot fi determinate pînă la 20 de analiți. Probele sînt introduse în flux în triplicat și sînt separate de patru bule de aer și două zone de soluție de spălare. Pentru fiecare analit dintr-o probă se vor înregistra în final trei semnale.

b) Un sistem central de introducere în fiecare canal a soluției de spălare,

c) 20 de unități analitice. fiecare unitate analitică are fluxuri independente de reactivi și diluant, dializoare, sisteme de încălzire etc. Deasemenea ele sînt prevăzute cu un sistem propriu de detecție., de obicei fotometric, iar în unele cazuri potențiometric, utilizînd electrozi ion selectivi. Pentru determinări colorimetrice fiecare unitate analitică are una sau mai multe celule în flux, fiecare fiind prevăzută cu un filtru adecvat,

d) Un sistem optic unitar bazat pe utilizarea fibrelor optice. Se folosește o singură sursă de radiații pentru toate unitățile fotometrice. Radiațiile luminoase emise de sursă sînt dirijate cu ajutorul fibrelor optice la fiecare unitate fotometrică, iar apoi radiațiile transmise prin probele de analizat sînt dirijate la detector. Drept detector se folosește un singur tub fotomultiplicator pentru toate unitățile fotometrice. Un disc ce se rotește permite trecerea secvențială a fasciculului de radiații la fiecare unitate analitică, realizîndu-se în acest mod discriminarea necesară. Într-o secundă se fac patru măsuri. Semnalele obținute (cîte trei pentru o probă) sînt înregistrate de către computer.

e) Un microprocesor care controlează funcționarea analizorului care este o parte esențială a sa. Pe lîngă achiziționarea rapidă a semnalelor și discriminarea pe care o face între ele, microprocesorul furnizează rezultatele analitice (sub forma unor buletine de analiză) efectuează etalonări periodice ale aparatului etc.

Bibliografie

1. Skeggs, L., Am. J. Clin. Path., 1957, 28, 311.
2. Furman, W.B., "Continuous Flow Analysis: Theory and Practice", Marcel Dekker, New York, 1976.
3. Valcarcel, M. și Luque de Castro, M.D., "Automatic Methods of Analysis", Elsevier, Amsterdam, 1988.
4. Coakley, W.A., "Handbook of Automated Analysis", Marcel Dekker, New York, 1981.
5. Foreman, J.K. și Stockwell, P.B., "Automatic Chemical Analysis", Horwood, Chichester, 1975.
6. "Standard Methods for the Examination of Water and wastewater", American Public Health Association, Washington, 1980, p. 364.
7. Skalar Application Laboratory method no. 22201.
8. Nagashima, S., Anal. Chim. Acta, 1978, 99, 197.
9. ASTM Standard Methods of Test for Cyanides in water, 1972, p. 553.
10. Snell, F.D., "Photometric and Fluorimetric Methods of Analysis of Non-metals", Wiley, New York, 1982.
11. Sebrell, W.H. și Harris, R.S., "The Vitamins", vol. 5, Academic Press New York, 1972.
12. USP, The United States Pharmacoposia XIS, Mack Printing Co., Easton, Pa., 1975, p. 629.
13. Maier, G.D. și Metzler, D.E., J. Amer. Chem. Soc., 1957, 79, 4386.
14. Kirk, J.R., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1974, 57, 1081.
15. Pelletier, O. și Madere, R., J. Food Sci., 1975, 40, 374.
16. Defibaugh, P.W., Smith, J.S. și Weeks, C.E., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1977, 60, 522.
17. Deutsch, M.J. și weeks, C.E., ibid, 1965, 48, 1248.
18. Kirk, J.R. și Ting, N., J. Food Sci., 1975, 40, 463.
19. Roy, R.B., Conetta, A. și Salpeter, J., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1976, 59, 1244.
20. Diamandis, E.D. și Hadjioannou, T.P., analyst, 1982, 107, 1471.
21. Schwartz, K., Anal. Chem., 1973, 45, 739A.

3.5. Progrese recente în domeniul analizărilor în flux segmentat

Analizările în flux segmentat au intrat în competiție cu alte tipuri de analizare automate (de exemplu cele bazate pe analiza unor probe discrete). Din acest motiv firma Technicon (precum și alte firme) au realizat noi modele de analizare, bazate tot pe folosirea unui flux segmentat cu bule de aer, dar care prezintă performanțe mult superioare față de modelele precedente.

Analizările firmei Technicon din așa numita "generație a treia" sînt reprezentate de modelul TRAACS - 800. Acesta are o construcție modulară și este prevăzut cu patru canale, fiecare permițînd executarea unui tip de analiză.

Principalele sale avantaje sînt:

1) Un control automat al diferitelor module, executat cu ajutorul unui calculator personal (IBM PC, XT, AT sau PS) care prin folosirea unui program adecvat permite controlul total al analizorului (colectarea datelor, diagnosticarea sistemului, obținerea buletinului de analiză etc.)

2) Un schimbător automat de probe perfecționat cu 120 de poziții

3) Utilizarea a cîte unei pompe peristaltice pentru fiecare canal. Aceste pompe prezintă și ele perfecționări (un mare număr de role, 60; cîte zece subcanale pentru fiecare pompă; utilizarea unui microprocesor pentru a controla presiunea pneumatică exercitată asupra tuburilor)

4) Tuburi de transport și de reacție cu diametru mic (1,0 mm) care permit o reducere a contaminării reciproce a probelor, o creștere a frecvenței probelor analizate (120 - 240 pe oră) și o reducere a consumului de probă și reactiv.

5) Un sistem de detecție cu fibre optice, ce utilizează o singură sursă de lumină.

6) Fluxul analitic segmentat cu bule de aer este trecut prin celula în flux fără eliminarea bulelor de aer. Semnalele parazite generate de bulele de aer sînt eliminate cu ajutorul computerului (folosind un program adecvat). Menținînd segmentarea cu bule de aer a fluxului se micșorează dispersia probelor, ceea ce permite efectuarea unui număr mai mare de determinări în unitatea de timp.

Analizorul TRAACS - 800 nu este utilizat pentru executarea de analize medicale, ci în alte scopuri, ca de exemplu în controlul poluării mediului.

Firma Alpkem [1] produce și comercializează de curînd analizorul RFA 300 (Rapid flow Analyzer). Acesta are o serie de caracteristici dintre care menționăm:

permite efectuarea de pînă la 300 de determinări pe oră (pe un singur capal), se utilizează un flux segmentat cu bule de aer, însă diametrul interior al tuburilor folosite este mic (aproximativ 1 mm, față de 2,4 mm, care este diametrul interior al tuburilor utilizate în cazul analizărilor SPA din prima generație); consumul de probă și reactiv pentru efectuarea unei determinări este de ordinul microlitrilor.

Analizorul RFA 300 are o construcție modulară. Fiecărui tip de determinare analitică îi corespunde un ansamblu caracteristic de bucle de amestecare, dializoare, băi de încălzire, iar trecerea de la un tip de determinare la altul se poate face foarte rapid prin schimbarea unității analitice.

Analizorul poate funcționa în sistem monocanal sau multicanal, iar funcționarea sa poate fi în mod opțional dirijată sau nu de un computer.

Măsurarea semnalului analitic se face fără îndepărtarea bulelor de aer din flux, semnalele parazite date de acestea fiind eliminate cu ajutorul unui sistem electronic. Analizorul RFA 300 permite efectuarea a sute de tipuri de determinări analitice din probe cu caracteristici foarte diferite între ele, o mică parte dintre acestea sînt prezentate în tabelul 3.1.

Tabelul 3.1.

Tipuri de determinări analitice ce pot fi executate cu analizorul RFA 300

Analize medicale

Specia determinată	Metoda	Domeniul de concentrații
Albumină	cu verde de bromcrezol	0 - 6 g/dL
Calciu	cu crezolfaleină	0 - 15 mg/dL
Clorură	cu tiocianat de mercur	80 - 130 meq/L
Colesterol	enzimatic	0 - 500 mg/dL
Creatinină	metoda Jaffe	0 - 20 mg/mL
CPK	diacetil-orcinol	0 - 1200 mU/mL
GGT	cu p-nitroanilină	0 - 500 mU/mL
LDH	reducerea NAD^+	0 - 600 mU/mL
Fosfat, anorganic	cu albastru de moliбden	0 - 10 mg/dL
Proteine totale	reacția biuretului	0 - 10 g/dL
Acid uric	enzimatic	0 - 12 mg/dL

(continuare)

Analize cu aplicații în industrie

Specia determinată	Metoda	Domeniul de concentrații
Amoniac	albastru de indifenel	0,002 - 1000 ppm
Clorură	tiocianat de mercur	0,1 - 800 ppm
Glanură	cloramină T	5 - 500 ppm
Cr(VI)	difenilcarbasidă	0,004 - 10 ppm
Fenol	4-aminoantipirină	0,005 - 5 ppm
Silicat	melibdat/ SnCl_2	0,006 - 1000 ppm
Sulfit	pararosanilină	0,03 - 300 ppm

O altă realizare recentă în domeniul analizatoarelor în flux segmentat o constituie analizorul firmei ChemLab numit "System 4" [2]. Analizorul are o construcție modulară. Pot fi analizate pînă la 120 de probe pe oră. Fiecare tip de analiză este executat într-un modul analitic cu caracteristici bine definite. Aceste module pot fi schimbate ușor ceea ce permite implicit schimbarea tipului de analiză efectuat. Analizorul poate lucra în sistem moncanal sau multicanal. Dintr-o probă pot fi determinați simultan mai mulți analiți. Funcționarea analizorului poate fi dirijată de un calculator, care deasemenea poate prelucra datele experimentale.

Analizorul "System 4" permite efectuarea a foarte multe tipuri de analize (mai multezeci) cu aplicații în numeroase domenii cum ar fi: biochimie, agricultură, industrie, protecția mediului, medicină etc.

Pentru aplicații medicale firma Technicon a conceput un analizor în flux segmentat, CHEM-1, bazat pe un nou principiu numit de către inventatorii săi "tehnologia chimiei în capsulă" [3]. Se utilizează un lichid viscos, inert, cu caracter de polimer (un derivat fluorurat polimerizat). Un film subțire din acest lichid este reținut pe peretele interior al unui tub de teflon și va conține ca într-o capsulă segmente de fluid, nepermițînd contactul acestora cu peretele tubului.

Filmul de lichid inert nu este umectat de soluțiile apoase ale reactivilor sau de către probele de analizat, iar la deplasarea segmentelor de lichid nu va rămîne în urma lor un film de lichid, care să determine o contaminare a probelor succesive, așa cum se întîmplă la utilizarea unor tuburi de sticlă. Înlocuirea tuburilor de sticlă cu tuburi de teflon, astfel ca bulele de aer să fie în contact direct cu pereții tubului nu este satisfăcătoare, deoarece bulele de aer se vor distribui neregulat de-a lungul tubului.

Dacă însă filmul de lichid inert este prezent pe pereții interiori al tubului, se vor putea obține în flux bule de aer de dimensiuni dorite, care vor acționa ca o barieră totală între segmentele de lichid, evitându-se astfel contaminarea reciprocă a probelor succesive (fig. 3.16a).

O altă nouă folosită la realizarea analizorului CHEM-1 o constituie modul în care proba și reactivii sînt amestecați în așa numita "zonă de dispariție". Aceasta constă dintr-o mărire a diametrului tubului cu 50% (de la 1 la 1,5 mm) pe o distanță scurtă, care determină o modificare a curgerii pe acea porțiune. Bulele de aer cu volum mai mic decît al segmentelor de lichid pe care le separă se detașează de pereții inferiori al tubului și permit perechii de segmente de lichid să se amestece (fig. 3.16b).

În cazul analizorului CHEM-1 s-au adus perfecționări și sistemului de amestecare a probei cu reactivii în fiecare segment de lichid, înlocuindu-se buclele spiralate de amestecare cu sisteme de amestecare mai eficiente. În aceste sisteme fluxul suferă frecvente schimbări de direcție la circulația sa prin tub.

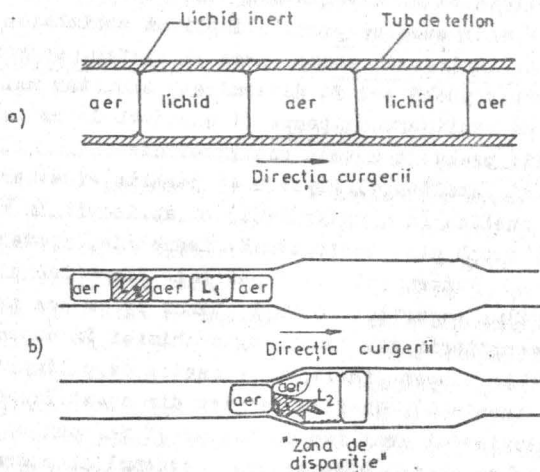


Fig. 3.16. Noutățile folosite în cazul analizorului CHEM-1.

a) Tehnologia chimiei în capsulă: filmul de lichid inert nu permite contactul dintre fluxul segmentat și pereții tubului, b) Amestecarea în "zona de dispariție" a două segmente de lichid L_1 și L_2 separate de o bulă de aer.

Sistemul hidrodinamic al analizorului CHEM-1 este foarte simplu și nu prezintă puncte de confluență. În fig. 3.17 se prezintă schema de principiu a analizorului CHEM-1.

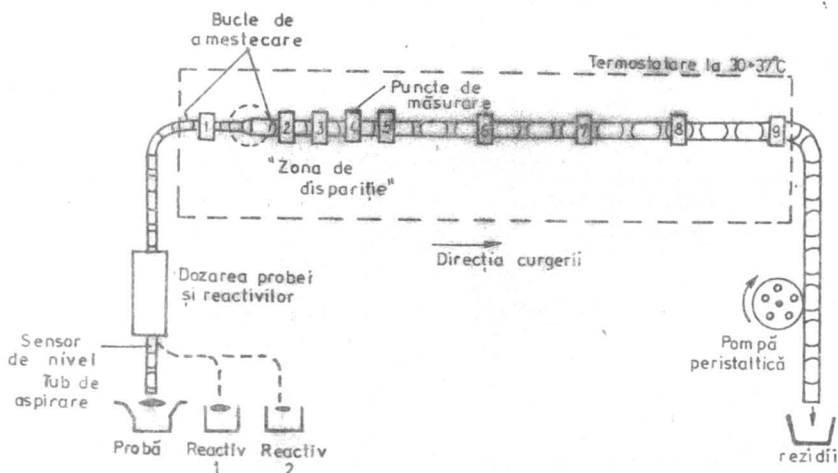


Fig. 3.17. Schema analizorului CHEM-1.

Analizorul CHEM-1 are un singur canal (cu lungimea de 567 cm) fluxul de lichid fiind pus în mișcare de o pompă peristaltică. Proba și reactivii sunt aspirați secvențial în tub, volumul acestora, precum și al bulelor de aer se segmentează fluxul fiind măsurat cu ajutorul unui dispozitiv special, care va fi prezentat în continuare (fig. 3.18). În fiecare vas ce conține un reactiv sau o probă de analizat se introduce inițial o picătură din lichidul inert menționat mai sus și care plutește la suprafață. La introducerea tubului de aspirație într-un vas se va aspira mai întâi un mic volum de lichid inert, care va forma un film protector pe pereții săi exterior și interior, evitându-se astfel contaminarea reciprocă a diferitelor lichide aspirate. datorită acestui fapt nu mai este necesară folosirea unei soluții de spălare și crește mult frecvența de analiză a probelor. Reactivii și probele sunt identificați cu ajutorul unui sistem optic, folosind un cod adecvat, astfel înocit vasele care îi conțin pot fi plasate întâmplător în suportii lor.

În fig. 3.18 se prezintă segmentele de lichid și aer formate în tub, după aspirarea secvențială a probei de analizat plus reactivul 1 și a reactivului 2, separați de o mică bulă de aer (analiza nr. 1)

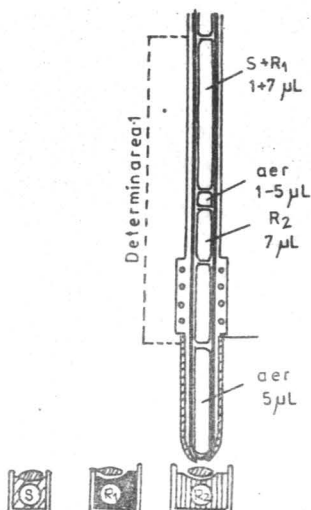


Fig. 3.18. Introducerea în analizorul CHEM-1 a probei de analizat și a reactivilor (R_1 și R_2).

Măsurarea volumelor de probă și reactivi se face cu ajutorul unei micropompe, cu un sistem de valve și cu un sistem optic, în tub va fi aspirat un lichid sau aer, pînă cînd meniscul format la interfața aer - lichid ajunge în dreptul unui fascicul luminos, transversal pe tub dat de un LED, ce are în partea opusă un fotodetector. Pe-a lungul sistemului de dozare sînt mai multe perechi LED-fotodetector astfel plasate, încît întreruperea fasciculului luminos de către meniscul gaz - lichid să corespundă unor volume bine determinate de lichid sau aer (7,0, 7,5, 8,0, și 8,5 μL).

Computerul ce controlează funcționarea sistemului va alege reactivii necesari pentru efectuarea unei determinări, va stabili ordinea de introducere a acestora în analizor, precum și vîlumele de probă, reactivi și aer necesare pentru o anumită determinare.

După formarea capsulelor de lichid, acestea trec într-o încălț termostatăată și printr-un sistem de amestecare a probei cu reactivul 1 (în segmentul de lichid care le conține). Segmentul de lichid trece apoi prin primul detector (dintr-o întreagă serie). Detecția se face chiar în tubul de teflon cu diametrul interior de 1 mm (la fel și în cazul

celorlalți detectori). Valoarea absorbanței măsurată în acest punct corespunde probei de comparație (nu a avut loc reacția analitică) iar din valorile măsurate ulterior se va scădea această valoare.

În continuare în "zona de dispariție" segmentul de lichid ce conține proba și reactivul 1 se amestecă cu cel care conține reactivul 2, segmentul de lichid rezultat trece printr-un sistem de amestecare, iar apoi prin sistemele de detecție succesive plasate în flux, care permit efectuarea măsurătorilor din 30 în 30 de secunde în cazul detectorilor 2, 3, 4 și 5 și din 90 în 90 de secunde în cazul celorlalți detectori. Fiecare sistem de detecție are trei tipuri de detectori optici: detectori de bule, spectrofotometrice și nefelometrice.

Identificarea unei capsule ce conține amestecul de reacție se face pe baza caracteristicilor de absorbție specifică (la 800 nm) a segmentului aer-soluție tampon-aer ce precede fiecare capsulă. Se măsoară apoi absorbanta fiecărei capsule în porțiunea sa centrală de câte șase ori la intervale de 100 ms, la șase lungimi de undă. Măsurătorile se fac în timp ce segmentul de lichid se deplasează prin tubul de teflon (diametru interior 1 mm). Se folosește un dispozitiv cu fibre optice ce permite utilizarea unei aceleiași surse de radiații pentru toate detectoarele plasate în flux.

Semnalele măsurate sînt trimise la un convertor analog/digital și transformate în unități de concentrație, folosind o serie de algoritmi. Detectorul nefelometric măsoară difuzia radiației de către particule produse în reacții imunologice de aglutinare în latex și în reacții de imunoprecipitare.

CHEM-1 permite aplicarea a 35 de metodologii analitice (inclusiv cinetice). Pot fi determinați pînă la 1800 de analiți pe oră.

Prin utilizarea unui modul suplimentar, constînd din trei electrozi ion selectivi și un electrod de referință, CHEM-1 permite determinarea sodiului, potasiului și dioxidului de carbon din ser.

CHEM-1 este un analizor sofisticat ce necesită un control strict în funcționare, control efectuat de un calculator, care deasemenea prelucrează datele experimentale obținute și furnizează rezultatele analitice.

Bibliografie

1. Alpkem Corp., Clakamas, Oregon, U.S.A.
2. CHemLab Instruments Limited, Hornchurch, Essex, England.
3. Gfeller, I.G. și Frey, G., Fresenius' Z. Anal. Chem., 1978, 291, 332.

4. ANALIZA PRIN INJECTARE ÎN FLUX

4.1. Introducere în analiza prin injectare în flux

Este un lucru bine cunoscut faptul că în realizarea de aparatură analitică s-au făcut progrese enorme în ultimele decenii. Au fost construite și sînt livrate comercial numeroase tipuri de aparate de mare performanță, care permit determinarea speciilor de analizat cu o mare sensibilitate și rapiditate, iar folosirea microprocesoarelor a facilitat atingerea unui înalt grad de automatizare a funcționării acestora, precum și a prelucrării datelor experimentale obținute.

Totuși și în prezent, chiar în cele mai avansate laboratoare, manipularea probelor lichide, cum ar fi diluarea, pipetarea, decantarea, filtrarea etc., se face manual, necesitînd o destul de mare îndemînare din partea analistului. Ustensilele folosite pentru a efectua astfel de operații (baloane cotate, pipete, pîlnii, pahare etc.) s-au introdus în practica analitică cu mai bine de 200 ani în urmă și este de remarcă faptul că pînă acum s-au adus destul de puține modificări acestora.

Se poate susține că pentru automatizarea unor operații analitice efectuate manual foarte indicați ar fi roboții. Dar pînă în prezent nu s-a putut realiza un robot care să se comporte, și să aibă performanțele cunoscuților androizi din filmele științifico-fantastice și care, eventual, să poată prelua sarcinile chimistului analist.

Utilizarea roboților în laboratoarele analitice este și va rămîne limitată în viitorul apropiat, deoarece necesită o programare foarte complexă și un sistem de control perfecționat, acestea determinînd un preț de cost foarte ridicat. Este probabil că utilizarea lor va rămîne limitată la operații simple, repetitive, cum ar fi cîntărirea unor probe, manipularea unor probe radioactive, injectarea probelor într-o coloană cromatografică etc.

Se poate constata că pînă în prezent modernizarea manipulării probelor lichide în scopuri analitice a avut o evoluție foarte încetă.

Pentru a mări productivitatea muncii în laboratoarele chimice s-a făcut la început o mecanizare a executării operațiilor analitice în soluție, fig. 4.1.b. S-a păstrat nealterată metodologia de lucru din cazul metodelor manuale de analiză. Probele de analizat

erau plasate în vase individuale în care se executau pe rând diferitele operații, în timp ce acestea erau transportate cu un sistem mecanic, asemănător unei benzi rulante, spre sistemul de detecție. Dispozitivul folosit era foarte complex din punct de vedere mecanic, se defecta ușor, avea prețul ridicat și nu s-a putut impune decât în mică măsură în laboratoarele analitice.

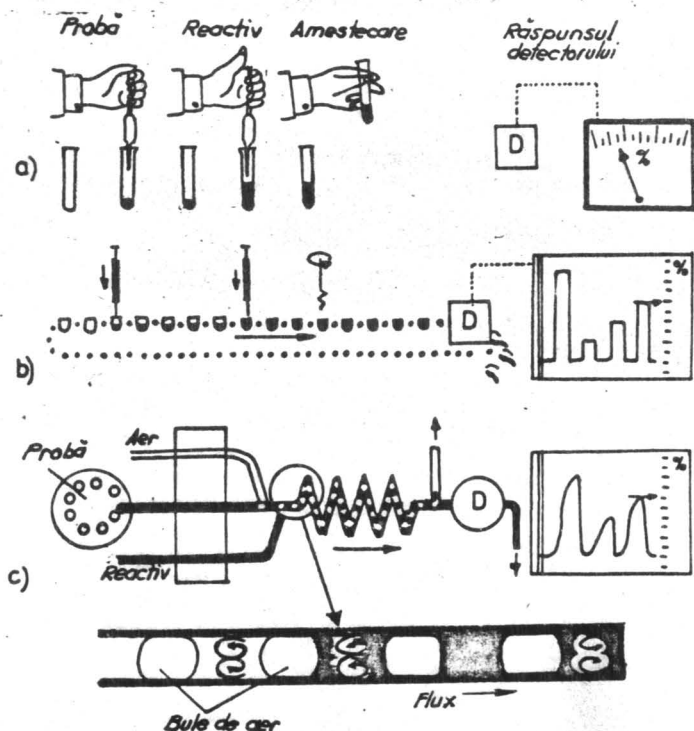


Fig. 4.1. Prezentarea comparativă a operațiilor ce se fac în cazul unei determinări colorimetrice obișnuite, acționând manual sau aplicând tehnici automate. a) operare manuală, b) utilizarea unui analizor mecanizat, c) utilizarea unui analizor în flux segmentat cu bule de aer. De notat că toate determinările se fac după o amestecare omogenă a probelor cu reactivii [1].

cda 309/1992 Jan. 5

. / .

Rezultate mult mai bune s-au obținut atunci cînd s-a renunțat la efectuarea analizei unor probe discrete, așa cum s-a prezentat mai sus, și s-a adoptat principiul analizei în flux. S-a renunțat deci la manipularea mecanică a unor vase (uneori fragile) în care se executau operațiile analitice, înlocuindu-se cu deplasarea unor fluide în tuburi. Operațiile în flux prezintă o serie de avantaje.

Astfel, sînt mult mai ușor de efectuat la scară mică, utilizînd tuburi cu diametre mici și sisteme de pompare de precizie. Operațiile în flux sînt, de asemenea, mai ușor de controlat în spațiu și timp, deoarece utilizarea tuburilor închise evită evaporarea lichidelor, asigură parcurgerea unor căi identice de către lichidele ce se deplasează și creează condiții pentru o amestecare foarte reproductibilă a componentelor și de formare a compușilor de reacție.

Operațiile în flux permit în plus, ca cele mai multe sisteme de detecție să poată fi utilizate într-un mod mai reproductibil decît la analiza unor probe discrete.

Skeggs [2] a fost primul care a propus un analizor în flux pentru a mări reproductibilitatea determinărilor analitice. Analizorul realizat de el a fost preluat, produs la scară mare și comercializat de către firma Technicon. Analizoarele respective poartă numele de Auto Analyzers și, pînă în prezent, s-au vîndut cîteva mii din prima variantă (între timp a fost perfecționat).

În analizorul propus de Skeggs, fig. 4.1.c., operațiile analitice se efectuează într-un flux segmentat cu bule de aer. Rolul bulelor de aer este acela de a evita amestecarea zonelor adiacente de lichid în care sînt conținute probele de analizat. Măsurarea semnalului analitic se face după ce în fiecare segment de lichid s-a realizat o amestecare omogenă a probei de analizat cu reactivii și după ce reacția chimică a ajuns la echilibru. Deci și în cazul analizorului propus de Skeggs își păstrează valabilitatea un principiu de bază al efectuării unei analize chimice, și anume că este necesară o amestecare omogenă a probelor de analizat cu reactivii pentru efectuarea de determinări reproductibile.

Se poate face o paralelă între analizorul propus de Skeggs și dispozitivul mecanizat de efectuare a operațiilor analitice descris mai sus. În cazul analizorului în flux al lui Skeggs, fluxul transportor corespunde benzii rulante, iar segmentele de lichid separate de bule de aer corespund vaselor în care sînt conținute probele individuale.

Introducerea bulelor de aer în flux în vederea evitării amestecării segmentelor adiacente de lichid pare un lucru pe deplin justificat și necesitatea folosirii lor nu a fost pusă în discuție, un număr însemnat de ani, pînă la apariția analizei prin injectare în flux (abreviat FIA, de la inițialele denumirii în limba engleză).

Principiul analizei prin injectare în flux a fost propus de Ruzicka și Hansen [3] și de către Stewart și colab. [4]', independent unii de alții.

Termenul de analiză prin injectare în flux a fost propus de Ruzicka și Hansen în anul 1975 [3] și în prezent este acceptat ca atare de comunitatea științifică internațională. Termenul de injectare este o rămășiță a primelor sisteme FIA în care injectarea probei în flux se făcea cu o seringă hipodermică. În prezent, introducerea probelor în flux se face în special utilizând valve rotative și mai curînd este vorba de o operație de inserare și nu de injectare a probei.

Conceptul analizei prin injectare în flux infirmă faptul bine stabilit că pentru a efectua măsurătoarea analitică trebuie realizată o amestecare omogenă a probei de analizat cu reactivii.

Inițial, această metodă a fost concepută pentru automatizarea analizelor de serie dar, în ultimul timp, ea s-a dezvoltat ca o tehnică cu caracter general de manipulare a soluțiilor și de obținere de date [5-8].

O trecere în revistă a literaturii de specialitate indică faptul că metoda FIA își găsește aplicații din ce în ce mai numeroase la efectuarea analizelor de rutină sau în cercetarea din chimia analitică, la controlul automat al unor procese industriale, în studiile privind testarea și realizarea de noi senzori, la ridicarea performanțelor unor aparate precum și în activitatea de învățămînt. Tehnica FIA se aplică de asemenea la măsurarea unor valori fundamentale, cum ar fi coeficienți de difuzie, compoziția unor complecși, constante de stabilitate, constante de extracție, produse de solubilitate etc.

Metodei FIA i-au fost dedicate mai multe monografii [6-9] și numeroase articole de sinteză [10-39] ceea ce confirmă, odată în plus, interesul deosebit de care se bucură această tehnică și domeniul larg de aplicare.

4.1.1. Caracteristici esențiale ale FIA

Metoda FIA aparține în principiu, metodelor automate de analiză, fiind o tehnică de analiză în flux continuu. Comparativ cu celelalte metode automate de analiză, metoda FIA prezintă o diferență majoră,

și anume că în cele mai multe cazuri se face analiza unor probe injectate manual. Acest lucru simplifică foarte mult aparatura necesară efectuării determinărilor. S-au realizat însă și numeroase dispozitive FIA în care injectarea probei se face automat, aplicate în special atunci când numărul probelor ce trebuie analizate este foarte mare.

Caracteristicile esențiale ale FIA sînt următoarele:

- fluxul nu este segmentat cu bule de aer, ceea ce reprezintă o diferență fundamentală față de analizoarele în flux clasice, propuse de Skeggs,

- proba este injectată sau inserată direct în fluxul transportor și nu este aspirată ca în cazul analizatoarelor în flux clasice,

- operațiile analitice se efectuează asupra probei (reacții chimice, dializă, extracție cu solvenți etc.) în timp ce aceasta este transportată de la valva de injectare spre detector,

- în timpul transportului probei prin instalația FIA se poate modifica dispersia parțială sau diluarea probei în flux prin controlul asupra geometriei și caracteristicilor hidrodinamice ale sistemului FIA,

- măsurarea semnalului FIA se face utilizînd un detector în flux care înregistrează o proprietate caracteristică speciei de analizat în funcție de timp, semnalele înregistrate avînd forma unor picuri,

- în momentul înregistrării semnalului în FIA nu se atinge echilibrul fizic (ceea ce ar presupune omogenizarea probei injectate cu fluxul purtător) și nu este necesar să se atingă nici echilibrul chimic (în sensul ca reacția chimică să decurgă complet),

- înregistrarea semnalului analitic trebuie efectuată după un timp bine definit de la operația de injectare, același pentru toate determinările. Aceasta deoarece măsurătorile se fac în condiții de neechilibru, iar mici variații ale timpului scurs între injectarea probei și măsurarea semnalului analitic pot produce erori apreciabile.

În concluzie, se poate spune că FIA prezintă patru caracteristici esențiale:

- flux nesegmentat,

- injectarea probei în flux,

- dispersia controlată a probei,

- un timp reproductibil între operația de injectare și măsurarea semnalului analitic.

4.1.2. Comparație între FIA și alte tehnici analitice

Este interesant de a face o comparație critică între caracteristicile noii tehnici FIA și cele ale altor tehnici cu care se aseamănă, cum ar fi cromatografia de lichide sau analiza în flux segmentat.

4.1.2.1. FIA și cromatografia de lichide de înaltă performanță

La început, mulți cercetători mai puțin avizați au crezut că metoda FIA și cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) sînt metode asemănătoare, dar, de fapt, asemănările sînt reduse, obiectivele pe care și le propun și principiul pe care se bazează fiind diferite.

Astfel, obiectivul cromatografiei este de a separa și a detecta componenții unor amestecuri, în timp ce, în cazul FIA obiectivul este de a obține și de a detecta un semnal pentru o singură specie, pentru un număr mare de probe.

HPLC necesită presiuni mari, de ordinul 1000 psi pentru a transporta proba prin coloană, în timp ce FIA utilizează presiuni mici, ce depășesc rareori 7 psi.

HPLC, de obicei, nu este caracterizată de o reproductibilitate foarte înaltă a dispersiei probei, lucru care este o caracteristică esențială a tehnicii FIA.

Ca o asemănare, se poate vorbi de faptul că în cazul ambelor metode probele de analizat sînt introduse prin injectare, iar în unele cazuri FIA folosește coloane de dimensiuni apropiate de cele folosite în HPLC. În HPLC se folosesc însă coloane cu umplătură, pe cînd în FIA se folosesc rareori astfel de coloane. HPLC este o tehnică de separare. În prezent, prin metoda FIA nu se pot realiza separări de înaltă rezoluție. Cele două tehnici sînt deci net diferite.

4.1.2.2. FIA și analiza în flux segmentat

Cea mai importantă diferență dintre cele două metode o constituie prezenta bulelor de aer în flux. Se consideră că bulele de aer îndeplinesc următoarele obiective:

- previn contaminarea reciprocă a probelor adiacente, împiedicînd dispersia probei în fluxul transportor,
- generează o curgere turbulentă datorită compresibilității aerului, ceea ce determină o amestecare a probei cu reactivul în fiecare segment de lichid.

În fig. 4.2. se prezintă principiul analizei în flux segmentat și al analizei FIA, precum și forma: semnalelor obținute în cazul celor două metode.

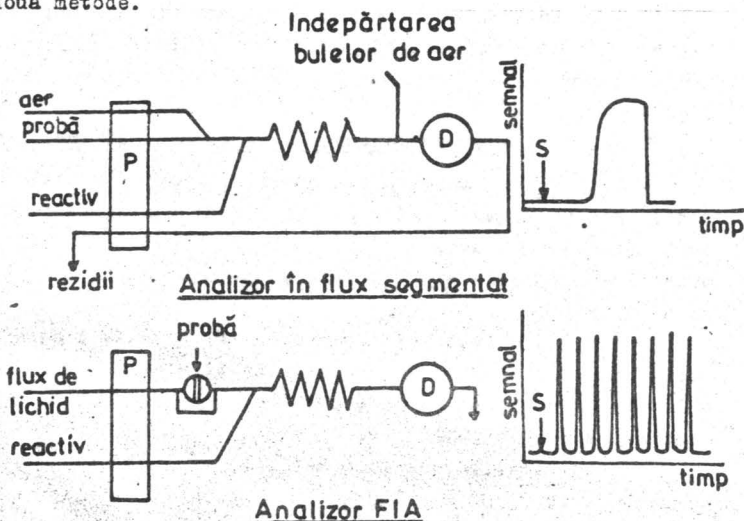


Fig. 4.2. Schema de principiu a unui analizor în flux segmentat și a unui analizor FIA. Alura semnalelor obținute în cazul fiecărei metode.

Un anumit număr de ani s-a considerat că segmentarea cu aer a fluxului este absolut necesară și că numai în acest mod fiecare probă își poate păstra individualitatea în flux.

În cazul FIA, individualitatea probelor se păstrează datorită introducerii acestora în flux, prin injectare, spre deosebire de analiza în flux segmentat la care probele se introduc în flux prin aspirare.

Prezența bulelor de aer la analiza în flux segmentat determină apariția a o serie de probleme, care au fost parțial sau total rezolvate în urma îmbunătățirilor realizate de firma Technicon la aparatele pe care le produce. Totuși, dezavantajele ce apar la segmentarea fluxului de lichid cu bule de aer sînt cît se poate de clare, dacă se compară analiza în flux segmentat cu analiza prin injectare în flux. Astfel:

- analizoarele în flux segmentat necesită folosirea unui mecanism pentru introducerea reproductibilă în flux a bulelor de aer și pentru îndepărtarea lor înainte de detector,
- la efectuarea unei separări (prin dializă, extracție cu solvenți etc.) eficiența procesului este mai mică datorită suprafeței de

contact mai redusă determinată de prezența bulelor de aer,

- datorită compresibilității bulelor de aer, fluxul obținut pulsează, ceea ce determină apariția unei faze de lag în semnalul înregistrat,

- în sistem poate apare electricitate statică, care va perturba răspunsul unor detectori electrochimici,

- la efectuarea unor analize cinetice în flux stopat rezultatele au o reproductibilitate redusă, datorită dificultăților ce apar la pornirea respectiv oprirea fluxului, pentru valdri ale timpului bine determinate,

- complexitatea tehnică a analizoarelor în flux segmentat nu permite miniaturizarea lor.

Se poate trage concluzia că absența bulelor de aer din flux în cazul FIA prezintă o serie de avantaje:

- aparatul folosit este mai simplu și din acest motiv mai sigur în funcționare și mai ieftin,

- numărul de probe ce pot fi analizate în unitatea de timp este mult mai mare,

- sistemul poate fi miniaturizat fără dificultăți,

- debitele fluxului transportor și al reactivului pot fi controlate reproductibil, incluzând, atunci când este cazul, perioade bine determinate de oprire a fluxului.

Pe lângă avantajele FIA comparativ cu analiza în flux segmentat discutate până în prezent, mai putem menționa: consumul mult mai redus de probă necesar în FIA și consumul substanțial redus de reactivi, aceasta deoarece debitele utilizate în FIA sînt mai mici decît în cazul analizei în flux segmentat. De asemenea, în cazul FIA nu este necesară etapa de spălare între probele adiacente (operație ce mărește mult durata unei analize în cazul metodelor în flux segmentat). Informațiile analitice furnizate de o înregistrare FIA sînt mai numeroase decît cele obținute în cazul analizei în flux segmentat. Astfel, pe lângă înălțimea picului (caracteristică proprie acestei metode) în cazul FIA se pot obține informații analitice și din suprafața picului, lățimea picului (tehnici FIA cu gradienti) sau raportul înălțimii a două picuri (determinări în flux stopat).

Bibliografie

1. Ruzicka, J., Anal. Chem., 1983, 55, 1041 A.
2. Skeggs, L., Am. J. Clin. Path., 1957, 28, 311.

3. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1975, 78, 145.
Danish Pat. Appl. No.4846/74, U.S. Pat. No. 4.022.575.
4. Stewart, K.K., Beecher, G.R. și Hare, P.E., Anal. Biochem., 1976, 70, 167.
5. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 1.
6. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., "Flow Injection Analysis", Wiley New York, 1981, 2-nd edition 1988.
7. Varcarcel, M. și Luque de Castro, M.D., "Flow Injection Analysis Principles and Applications", Ellis Horwood, Chichester, 1987.
8. Burguera, L.J. editor, "Flow Injection Atomic Spectroscopy", Marcel Dekker, New York, 1989.
9. Karlberg, B. și Pacey, G.E., "Flow Injection Analysis. A Practical Guide", Elsevier, Amsterdam, 1989.
10. Betteridge, D., Anal. Chem., 1978, 50, 832 A.
11. Ranger, C.B., Anal. Chem., 1981, 53, 20 A.
12. Hansen, E.H., Anal. Proc., 1981, 18, 261.
13. Mottola, R.A., Anal. Chem., 1981, 53, 1312 A.
14. Rocks, B.F., Sherwood, R.A. și Riley, C., Clin. Chem., 1982, 28, 409.
15. Van der Linden, W.E., Trends Anal. Chem., 1982, 1, 188.
16. Müller, J., Labor Praxis, 1983, 7, 1962.
17. Karlberg, B., Am. Labor., 1983, 15, 73.
18. Stewart, K.K., Anal. Chem., 1983, 55, 931 A.
19. Ruzicka, J., Anal. Chem., 1983, 55, 1040 A.
20. Müller, H. și Müller, V., Z. Chem., 1984, 24, 81.
21. Seitz, W.R., Grayeski, M.L., J. Clin. Lab. Autom., 1984, 4, 169.
22. Riley, C., Rocks, B.F. și Sherwood, R.A., Talanta, 1984, 31, 879.
23. Tyson, J.P., Analyst, 1985, 110, 419.
24. Müller, J. și Winter, B., Fresenius Z. Anal. Chem., 1985, 320, 451.
25. Luque de Castro, M.D., Talanta, 1986, 33, 45.
26. Whitaker, M.J., Amer. Lab., 1986, 18, 154.
27. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 1.
28. Linares, P., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., Rev. Anal. Chem., 1985, 8, 229.
29. Karlberg, B., Anal. Chim. Acta, 1986, 180, 16.
30. Ruzicka, J., Fresenius, Z. Anal. Chem., 1986, 324, 745.
31. Matschiner, H. și Sivers, P., Wiss. Fortschr., 1985, 35, 142.
32. Ruzicka, J., Anal. Chim. Acta, 1986, 190, 155.
33. Pacey, G.E. și Bubnis, B.P., Trends Anal. Chem., 1987, 6, 165.
34. Ruzicka, J., Fresenius Z. Anal. Chem., 1988, 329, 633.

35. Sjödin, A. și Sundqvist, U., Am. Lab., 1989, 21, 63.
36. Gisin, M. și Thommen, C., Trends Anal. Chem., 1989, 8, 62.
37. Valcarcel, M. și Luque de Castro, M.D., Fresenius Z. Anal. Chem., 1990, 337, 662.
38. Dăneș, A.F. și Luca, C., Rev. Chim., 1990, 41, 490.
39. Dăneș, A.F. și Luca, C., Rev. Chim., 1990, 41, 623.

4.2. Principiile generale ale analizei prin injectare în flux

Analiza prin injectare în flux se bazează pe injectarea unei probe lichide într-un flux purtător continuu, nesegmentat cu bule de aer, constituit dintr-un lichid adecvat. În fluxul purtător, proba injectată formează o zonă care este transportată spre detectorul prevăzut cu o celulă în flux și care înregistrează în mod continuu o proprietate caracteristică a probei, cum ar fi absorbanta sau conductanța acesteia, potențialul unui electrod etc.

De la introducerea sa, datorită aplicabilității largi pe care o prezintă, metoda FIA a fost adaptată la numeroase tipuri de tehnici de lucru și detectori, folosindu-se în acest scop configurații de lucru foarte variate.

Deși relativ simplă în principiu, deplasarea unei zone injectate într-un montaj FIA și formarea picului caracteristic acestei metode este un proces fizic, și în anumite cazuri chimic, complex. Aceste procese trebuie înțelese cât mai bine pentru a se putea optimiza proiectarea și funcționarea unui montaj FIA, în vederea efectuării unui număr maxim de analize în unitatea de timp, realizării unor economii de probă și reactiv, obținerii unei exactități maxime a determinărilor etc.

Un dispozitiv FIA poate fi proiectat, nu numai pentru efectuarea unor dozări simple (colorimetrice, electrometrice etc.) ci și pentru diluarea sau preconcentrarea probei de analizat, precum și pentru a efectua separări bazate pe extracție cu solvenți, difuzie gazoasă, dializă, schimb ionic, pentru a utiliza reactivi preparați "in situ" și pentru a dilua reactivii la concentrații adecvate unei anumite metode de analiză.

4.2.1. Principii ale FIA și caracteristici ale semnalelor înregistrate

În fig. 4.3 se prezintă schema unui montaj FIA foarte simplu. Acesta constă din: o pompă, cu care se obține fluxul transportor care circulă printr-un tub cu diametru mic (de obicei mai mic de 1 mm), o valvă de injectare, cu ajutorul căreia se inserează un volum bine definit din proba de analizat, într-un mod reproductibil, în fluxul transportor, un microreactor în care zona probei se dispersează și reacționează cu componentele fluxului, formând specii caracteristice și un detector prevăzut cu o celulă în flux cu ajutorul căreia speciile formate sînt puse în evidență și înregistrate.

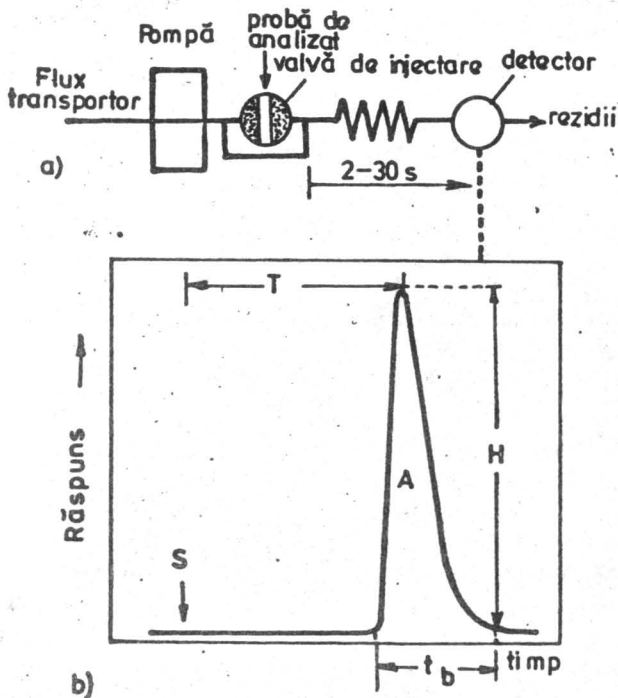


Fig.4.3.a) Schema unui montaj FIA simplu cu o singură linie.

b) Semnalul FIA înregistrat de detectorul prevăzut cu o celulă în flux. Explicații în text.

Inregistrarea FIA obținută (fig.4.3.b) are aspectul unui pic a cărui înălțime, H , sau suprafață, A , este corelată cu concentrația analitului. Timpul de rezidență, T , este timpul scurs între introducerea probei, notată cu S , și apariția maximului picului. În acest timp are loc reacția chimică dintre specia de analizat și reactivul din fluxul purtător.

Pentru un sistem FIA bine proiectat timpul necesar analizei unei probe (aproximativ $T + t_b$) este mai mic de 30 s. Volumul probei injectate poate fi cuprins între câțiva μL și câteva sute de μL (de obicei 20-30 μL).

În tabelul 4.1 se prezintă câțiva parametri tipici pentru un sistem FIA cu dispersie medie. Ținând seama de datele prezenta-

te în acest tabel putem trage concluzia că FIA este o tehnică microchimică, ce permite analiza unui mare număr de probe într-un timp scurt cu un consum redus de probă și reactivi.

Tabelul 4.1.

Parametrii tipici pentru un sistem FIA cu dispersie medie

Parametru	Valoarea
Volumul probei injectate (μL)	10-200
Debitul fluxului transportat (mL/min)	0,5-2,5
Lungimea microreactorului (cm)	10-200
Diametrul tuburilor (mm)	0,3-0,8
Volumul celulei în flux a detectorului (μL)	8-40
Numărul de probe analizate (h^{-1})	60-360
Durata unei determinări (s)	10-60

Se poate trage concluzia că metoda FIA se bazează pe: injectarea probei într-un flux transportor, dispersia controlată a zonei probei injectate și un timp reproductibil necesar deplasării probei între punctul de injectare și detectorul în flux. Astfel, în contrast cu toate celelalte metode ale analizei instrumentale, în cazul FIA reacțiile chimice au loc în timp ce proba de analizat se dispersează în reactiv. Aceasta explică de ce conceptul de dispersie, în spațiu și timp, este esențial pentru explicarea FIA.

Deoarece formarea gradientului de concentrație al zonei probei în urma procesului de dispersie este un proces strict reproductibil pentru fiecare probă injectată, toate transformările ce au loc pentru o anumită probă vor avea loc la fel pentru următoarele probe injectate, aceasta făcând ca determinările să fie foarte reproductibile.

FIA poate fi considerată ca o nouă tehnică de manipulare a soluțiilor și de efectuare a reacțiilor de dozare, permițând automatizarea determinărilor analitice.

Proiectarea unui sistem FIA se face în funcție de scopul urmărit. Astfel, dacă se dorește numai transportul probei de analizat la detector, într-un mod perfect reproductibil, atunci sistemul FIA utilizat trebuie să prezinte o dispersie cât mai mică a probei în fluxul purtător. În aceste condiții proba va ajunge practic nediluată la detector. Aceasta este situația în cazul unor determinări prin absorbție atomică, flamfotometrie, în cazul unor determinări de pH etc.

Pentru alte tipuri de determinări, în care se măsoară o proprietate a produsului de reacție format de specia de analizat cu reacți-

vul (sau reactivii) conținut în fluxul transportor, sistemul FIA trebuie proiectat în așa fel încît zona probei să prezinte o dispersie suficientă, astfel ca să poată avea loc reacția chimică de dozare. Această este situația în cazul unor determinări spectrofotometrice, fluorimetrice, turbidimetrice etc. Este de remarcat însă faptul că pentru efectuarea unor determinări de acest tip nu va avea loc o amestecare omogenă a probei de analizat cu reactivul și nu este necesară atingerea echilibrului chimic.

Pornind de la conceptul de dispersie controlată, metoda FIA permite de asemenea, diluarea unor soluții prea concentrate ale probei de analizat într-un mod reproductibil. În cazul unor soluții prea diluate din proba de analizat se poate realiza o preconcentrare a acestuia. Pentru a se efectua separări chimice (prin dializă, difuzie gazoasă, extracție cu solvenți, schimb ionic) trebuiesc proiectate sisteme FIA mai complexe, dar și utilizarea și optimizarea acestora se bazează pe conceptul de dispersie controlată a zonei probei în fluxul transportor.

În fig. 4.3.b se prezintă forma tipică a unui semnal FIA înregistrat cu ajutorul unei celule în flux și care are forma unui pic asimetric. Toate cele trei caracteristici principale ale picului: înălțimea H , suprafața A , și lățimea W , sînt corelate cu concentrația speciei de analizat, însă într-un mod diferit.

$$\text{Astfel:} \quad H = k \cdot c \quad (4.1)$$

$$A = k' \cdot c \quad (4.2)$$

unde k și k' sînt constante de proporționalitate. Spre deosebire de H și A , lățimea picului W este funcție de logaritmul concentrației substanței dozate.

Pentru efectuarea unei determinări cantitative, de obicei se măsoară înălțimea picului la maximum acestuia, care este corelată cu concentrația speciei dozate. Înălțimea picului se poate însă măsura și pe porțiunile descrescătoare ale acestuia, și în acest caz fiind o dependență liniară între înălțime și concentrația speciei dozate. Sensibilitatea determinărilor este mai mică, dar aceasta poate constitui un avantaj în cazul analizei unor probe de concentrație mare.

Utilizarea suprafeței picului pentru determinări cantitative nu prezintă avantaje semnificative comparativ cu utilizarea înălțimii acestuia. În anumite cazuri, atunci cînd răspunsul detectorului este funcție de logaritmul concentrației speciei dozate, folosirea suprafeței picului pentru determinări cantitative oferă chiar o precizie mai mică decît utilizarea înălțimii acestuia.

Lățimea picului, corespunzătoare unei anumite valori a semna-

lului înregistrat, fiind proporțională cu $\lg C$ reprezintă un domeniu dinamic mult mai larg decât H și A . Determinările sînt însă mai puțin precise, tocmai datorită naturii acestei dependențe.

4.2.2. Dispersia zonei probei și factorii principali care o influențează

4.2.2.1. Coefficientul de dispersie

Ruzicka și Hansen [1] introduc noțiunea de coeficient de dispersie pentru a caracteriza picul înregistrat în cazul unei determinări FIA.

Pentru a defini coeficientul de dispersie, notat cu D , să considerăm un montaj FIA simplu (fig. 4.3.a) în care se injectează o probă de concentrație inițială C^0 . Reprezentînd concentrația inițială a probei din valva de injectare, C^0 , și profilul de concentrație al probei ce ajunge la detector vom obține un grafic ca cel prezentat în fig. 4.4.

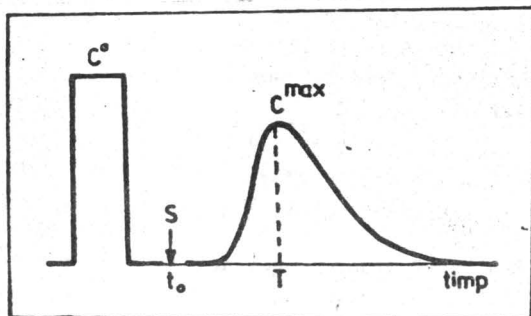


Fig.4.4. Profilul de concentrație al probei din valva de injectare, C^0 , (în stînga) și profilul de concentrație al zonei probei ce a fost parțial dispersată în urma transportului printr-un microreactor tubular. C^{max} concentrația la maximul picului.

Curba înregistrată de detector va avea forma unui pic, ce corespunde unui gradient de concentrație în care nici un element de fluid nu are o concentrație identică, în specia de analizat, cu unul alăturat.

Coefficientul de dispersie, D , se definește ca fiind raportul dintre concentrația inițială a speciei injectate și concentrația sa după ce a avut loc procesul de dispersie, într-un anumit element de fluid în care se face măsurătoarea. De obicei, măsurătoarea se face la maximul picului, iar D este dat de relația:

$$D^{\max} = \frac{C^0}{C^{\max}} \quad (4.3)$$

Pentru simplificare vom nota în continuare $D^{\max}$ cu D .

Măsurătoarea se poate face însă într-un element de fluid aflat în orice porțiune a gradientului de concentrație, atât crescătoare cât și descrescătoare și în acest caz se definește D^E :

$$D^E = \frac{C^0}{C^E} \quad (4.4)$$

unde C^E este concentrația speciei puse în evidență de detector într-un anumit element de fluid de pe gradientul de concentrație.

Similar se poate defini coeficientul de dispersie pentru un reactiv pe care îl notăm cu D_R .

Coeficientul de dispersie definit mai sus se referă numai la procesul fizic de dispersie al probei în fluxul transportor și nu ia în considerare reacțiile chimice ce pot avea loc.

Picul înregistrat în FIA este însă rezultatul a două procese cinetice ce au loc simultan: procesul fizic al dispersiei zonei și procesul chimic al reacției speciei de analizat cu reactivul (reactivii). Procesul fizic de dispersie al probei în fluxul transportor se reproduce practic identic pentru fiecare probă injectată. Pentru ca o anumită reacție de dozare să poată fi utilizată în cazul metodei FIA este însă necesar ca reacția dintre specia de dozat și reactiv să decurgă cu o viteză suficient de mare, astfel încît să se formeze o cantitate măsurabilă din produsul de reacție în timpul transportului probei la detector (de obicei sub 30 s). Sînt însă și excepții, cînd se folosesc reacții chimice cu viteză mică, de exemplu în cazul metodei FIA în flux stopat.

Cea mai simplă metodă pentru măsurarea coeficientului de dispersie pentru un sistem FIA constă în injectarea soluției unui colorant de concentrație C^0 și măsurarea absorbânței picului înregistrat. Coeficientul de dispersie va fi dat de raportul dintre absorbânța soluției inițiale a colorantului și absorbânța măsurată într-un anumit punct de pe gradientul de concentrație.

Valoarea coeficientului de dispersie, D , este întotdeauna corelată cu timpul scurs între momentul injectării probei, t_0 , și momentul t , cînd elementul de fluid ce conține proba dispersată trece prin celula detectorului. Pentru maximul picului înregistrat, $t = T$.

Sistemele FIA pot fi clasificate în sisteme în care dispersia probei este mică, $3 > D > 1$, medie, $10 > D > 3$ și mare, $D > 10$. În funcție de valoarea coeficientului de dispersie al probei, sistemele FIA au u-

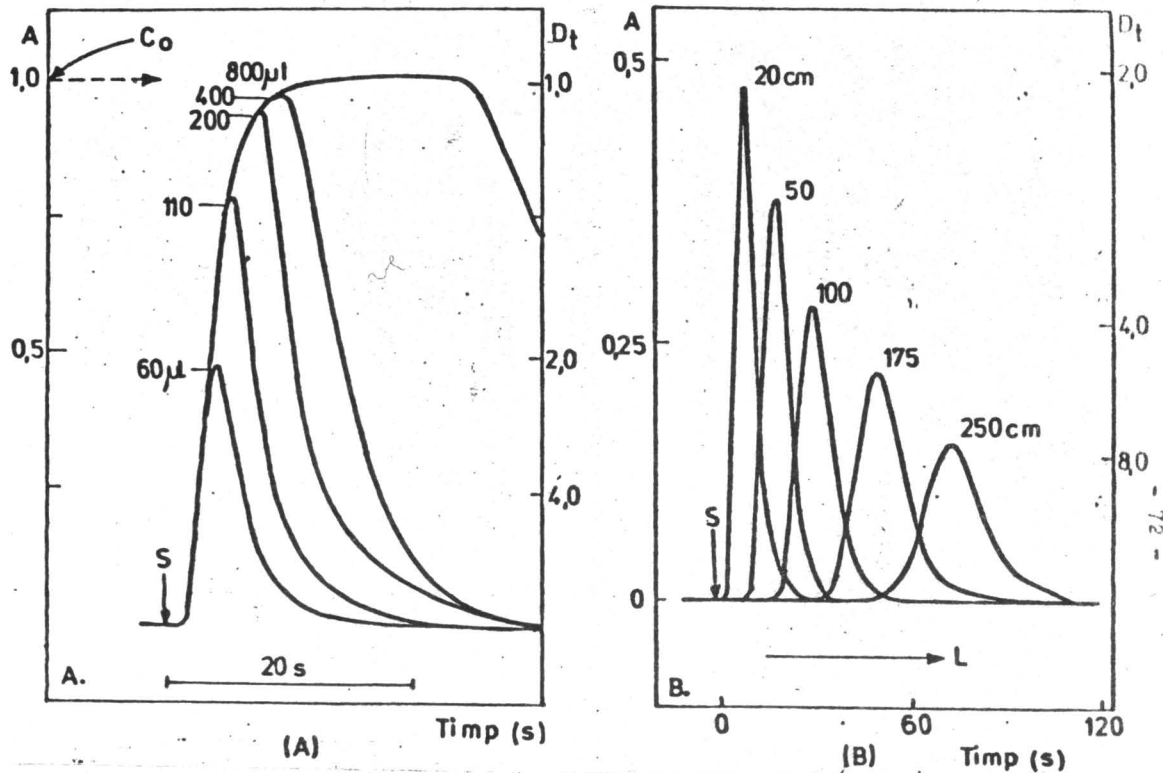


Fig. 4.5. Influența volumului probei (A) și a lungimii tubului (B) asupra dispersiei
 A) Lungimea tubului 20 cm, diametru interior 0,5 mm, debitul 1,5 mL/min.,
 B) Volumul probei 60 μ L, diametrul și debitul aceleași ca pentru A).

tilizări specifice, care vor fi discutate în capitolul 4.5.

4.2.2.2. Relația dintre înălțimea picului și volumul probei injectate

În fig. 4.5.a se prezintă o serie de înregistrări FIA prin care se pune în evidență influența volumului de probă injectată asupra semnalului înregistrat [2]. Înregistrările s-au făcut cu un montaj FIA simplu, ca cel prezentat în fig. 4.3.a, injectându-se diferite volume din soluția unui colorant într-un flux transportor. Se consideră că injectările s-au făcut în același punct notat cu S. După cum se vede din fig. 4.5.a, înălțimea semnalului crește cu volumul probei injectate până la atingerea valorii "staționare" ce corespunde absorbției colorantului nediluat, C^0 .

Porțiunea crescătoare a tuturor curbelor înregistrate se suprapune, iar forma porțiunii crescătoare nu depinde de volumul probei injectate, notat cu S_v .

Se poate scrie:

$$D = [1 - \exp(-kS_v)]^{-1} = [1 - \exp(-0,693 n)]^{-1} \quad (4.5)$$

unde $n = S_v/S_{1/2}$. $S_{1/2}$ reprezintă volumul probei injectate necesar atingerii valorii $1/2$ (50%) din valoarea "staționară" corespunzătoare colorantului nediluat. $S_{1/2}$ corespunde lui $D = 2$.

Pentru o dispersie limitată se injectează un volum de probă de ordinul $2 S_{1/2}$, în celelalte cazuri, pentru o dispersie medie sau mare se injectează un volum de probă mai mic de $S_{1/2}$. Pentru volume ale probelor injectate mai mici de $S_{1/2}$ înălțimea picului este proporțională cu volumul probei injectate.

S-a demonstrat [2] că $S_{1/2}$ nu depinde de metoda de injectare dar este determinat de volumul și geometria canalului prin care are loc curgerea lichidului.

4.2.2.3. Relația dintre înălțimea picului, diametrul și lungimea tubului în care are loc dispersia zonei probei și debitul fluxului transportor

Cel mai frecvent, în FIA dispersia probei are loc în tuburi dispuse sub formă de spirală. Diametrul tubului utilizat are o mare influență asupra valorii $S_{1/2}$, astfel ca cît diametrul tubului este ^{mic} mai un anumit volum de probă injectată va ocupa o lungime mai mare a tubului, iar procesul de dispersie al probei în fluxul transportor va fi mai redus.

Se poate trage concluzia [2] că pentru a obține o dispersie redusă a probei în fluxul transportor (dăci valori mai mari ale înălțimii picului înregistrat) este necesar de a se utiliza tuburi cu di-

Cda 309/1992 Fac. 6

ametriu cît mai mic și cît mai scurte, iar volumul probei injectate trebuie să fie de cel puțin $S_{1/2}$.

În FIA se preferă de fapt, în toate cazurile, folosirea tuburilor cu diametru mic, chiar și atunci cînd dorim o dispersie medie sau mare a probei. Aceasta deoarece utilizînd tuburi cu diametru mic se realizează o economie substanțială de reactivi și probă, iar creșterea dispersiei probei poate fi ușor realizată prin micșorarea volumului probei injectate sau prin creșterea lungimii tubului în care are loc dispersia.

Micșorarea diametrelor tuburilor utilizate în FIA nu se poate face decît pînă la o anumită limită, din mai multe motive dintre care menționăm: creșterea rezistenței la curgere, dificultăți în realizarea detecției la utilizarea unor celule în flux cu volumul foarte mic și ușurința cu care se pot bloca cu particule solide tuburile cu diametru foarte mic.

Timpu mediu de existență în flux al probei, $\bar{T}$ (timpu de rezidență), pentru un anumit sistem FIA format dintr-un tub cu diametru interior uniform, d , lungimea, L , și pentru un debit al fluxului, Q , este dat de relația:

$$\bar{T} = \pi (d/2)^2 L/Q = L/F = V_r/Q \quad (4.6)$$

unde F este viteza liniară a fluxului și V_r este volumul tubului (al microreactorului).

S-a arătat [2] că pentru sistemele FIA în care curgerea are loc în tuburi fără umplutură, dispersia este dată de relația:

$$D = 2 \pi^{1/2} R^2 D_f^{1/2} \bar{T}^{1/2} / S_v \quad (4.7)$$

unde D_f este coeficientul de dispersie axială, R este raza tubului, iar D este coeficientul de dispersie la maximul picului.

Deci dispersia crește cu rădăcina pătrată a timpului de rezidență $\bar{T}$ (sau rădăcina pătrată a distanței parcurse).

Valabilitatea relației (4.7) este confirmată de datele experimentale prezentate în fig. 4.5.b.

Relația (4.7) este valabilă pentru volume ale probei injectate $S_v < S_{1/2}$, deoarece numai în această situație înălțimea picului înregistrat este direct proporțională cu volumul probei injectate, conform ecuației (4.5) și datelor prezentate în fig. 4.3.a.

Pentru a mări timpu mediu de rezidență al probei, $\bar{T}$, în cazul utilizării unor reacții chimice mai lente, fie se poate mări lungimea tubului în care are loc dispersia, L , fie se poate micșora debitul, Q (relația 4.6).

Cea de a doua metodă de mărire a lui T este mult mai avantajoasă, deoarece se realizează o economie de reactivi și dispersia probei este micșorată (comparativ cu prima metodă) aceasta determinând o înălțime mai mare a picului înregistrat.

În anumite situații, când viteza de reacție dintre specia de dozat și reactivul din fluxul transportor este foarte mică, se poate chiar proceda la oprirea fluxului transportor un anumit interval de timp. Stoparea fluxului transportor nu determină o creștere a dispersiei zonei probei, în schimb poate avea loc reacția de dozare.

4.2.2.4. Relația dintre înălțimea picului și geometria canalului prin care are loc curgerea

Canalul prin care are loc curgerea în cazul FIA poate fi considerat drept un microreactor care este plasat între sistemul de injecție și detector.

În principiu, geometria microreactoarelor utilizate în FIA și în care are loc dispersia controlată a probei în fluxul transportor poate fi de mai multe tipuri (fig.4.6): a) tuburi drepte, b) tuburi spiralate, c) reactori împlețiți, reactori 3-D, d) camere de amestecare e) reactori cu umplutură sub formă de mici sfere din material inert cu diametrul de aproximativ 60% din diametrul interior al tubului, f) canale imprimate sau microconducente.

Aceste microreactoare sînt utilizate fie individual, fie sub formă de combinații între ele.

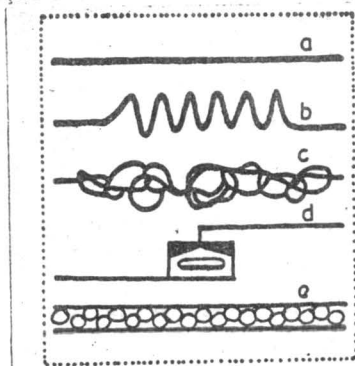


Fig.4.6. Microreactoare de diferite geometrii utilizate cel mai frecvent în FIA: a) tuburi drepte, b) tuburi spiralate, c) reactori împlețiți, reactori 3-D, d) camere de amestecare, e) reactori ce conțin o umplutură formată din mici sfere cu diametrul de aproximativ 60% din diametrul tubului.

Funcția acestor reactori este de a mări intensitatea amestecării radiale în flux, ceea ce determină o reducere a profilului parabolic al vitezelor de curgere în direcția axială. Acest profil parabolic al vitezelor de curgere este caracteristic curgerii laminare și se formează la injectarea zonei probei în fluxul transportor. În acest mod, dispersia axială a zonei probei este redusă, iar proba se amestecă mai bine cu reactivul conținut în fluxul transportor.

Microreactoarele cele mai utilizate în FIA sînt construite din tuburi spiralate (fig.4.6.b). Cu cît tubul întrebuintat este mai lung, cu atît picul obținut va fi mai simetric. De obicei, picurile înregistrate în FIA sînt însă asimetrice (fig.4.5.b) deoarece lungimile tuburilor utilizate, din diferite considerente sînt foarte frecvent mai mici de 1 m.

Dispersia în tuburi spiralate și în reactori 3-D. Tuburi spiralate s-au utilizat în FIA chiar de la introducerea acestei tehnici, dar spiralarea s-a făcut în primul rînd cu scopul de a economisi spațiul, prin analogie cu dispunerea sub formă de spirală a tuburilor în cazul analizoarelor în flux segmentat.

Primul care a sesizat avantajul spiralării tuburilor utilizate în FIA a fost Tijssen [3]. El a descris de asemenea teoretic comportarea unei zone injectate ce se deplasează printr-un tub avînd o astfel de dispunere.

La utilizarea unui tub spiralat forța centrifugă rezultată în urma deplasării fluidului determină apariția unor forme de curgere secundară a lichidului în direcție radială, după cum se vede din fig.

4.7.

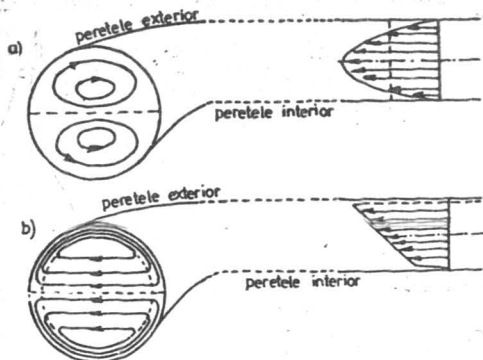


Fig.4.7. Curgerea secundară ce apare în tuburi spiralate și profilele de viteză ce se formează în funcție de viteza fluxului. a) la viteze mici, b) la viteze mari.

La viteze mici ale fluxului, forța centrifugă nu este foarte mare, iar profilul de viteze este practic parabolic. La viteze mari ale fluxului profilul este total diferit, deoarece moleculele din vecinătatea peretelui se deplasează cu o viteză mai mare decât cele din centrul tubului. În ambele cazuri apare o deplasare a fluidului perpendicular pe direcția fluxului după cum se vede din fig.4.7. Această deplasare a fluidului a fost denumită "curgere secundară" de către Tijssen [3] și are același efect ca difuzia radială, deci duce la o micșorare a dispersiei zonei injectate. Aceasta are drept rezultat obținerea unor picuri mai înguste, mai înalte și mai simetrice decât cele ce se obțin în cazul utilizării unor tuburi drepte de aceeași lungime.

În fig.4.8. se prezintă influența spiralării tubului asupra semnalelor înregistrate în FIA [3]. În toate cazurile s-a lucrat cu un tub de aceeași lungime, dar prezentând moduri de dispunere diferite, în linie dreaptă, sau sub formă de spirală cu diferite diametre. Se poate observa că, cu cât diametrul spirelor este mai mic dispersia este mai mică.

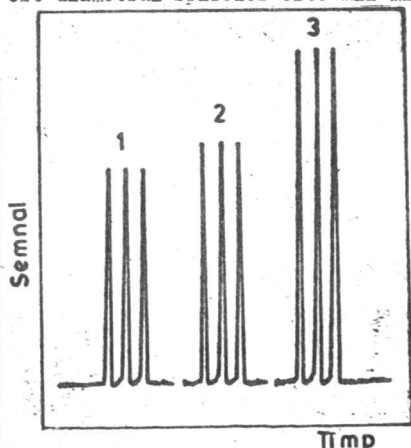


Fig.4.8. Influența diametrului spirei tubului prin care are loc curgerea lichidului asupra formei semnalului FIA.

- 1) tub drept, 2) tub sub formă de spire cu diametru de 26 mm și 3) tub sub formă de spire cu diametrul de 4 mm.

Destul de recent a fost publicată o teorie ce descrie dispersia unei probe în reactori spiralati [4].

Reactorii constituiți din tuburi împletite (innodate)(fig.4.6.c) sînt distribuiți în spațiu în trei dimensiuni (reactori 3-D) și au fost introduși în FIA în anul 1984 [5]. Aceștia asigură o dispersie ra-

dială eficiență a probei, datorită deplasării haotice a fluxului purtător prin tubul împletit.

Eficiența reactorilor 3-D poate fi explicată considerînd că apar profile de curgere ce au aspectul celor prezentate în fig.4.7., care se formează, dispar și se reformează de un mare număr de ori. Eficiența acestor reactori este mai mare decît a celor constituiți din tuburi drepte sau spiralate și este asemănătoare cu cea obținută în cazul reactorilor ce prezintă o umplutură formată din sfere de material inert înșiruite în tub, sfere ce au diametrul de ordinul 60% din diametrul interior al tubului. Tratarea teoretică a proceselor de dispersie în reactorii 3-D este încă la început.

Dispersia într-o cameră de amestecare. În fig. 4.9 se prezintă influența unei camere de amestecare intercalată într-un montaj FIA asupra picului înregistrat [6].

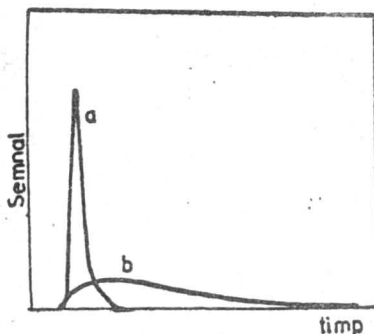


Fig.4.9. Efectul unei camere de amestecare asupra dispersiei zonei probei într-un sistem FIA cu o singură linie, în care s-a injectat soluția unui colorant. a) forma picului în absența camerei de amestecare, b) forma picului la intercalarea în montaj a unei camere de amestecare.

Intercalarea unei camere de amestecare într-un montaj FIA are o influență profundă asupra semnalului înregistrat. Înălțimea picului scade apreciabil, în schimb crește mult lățimea acestuia și durata unei determinări. Camera de amestecare determină formarea unui gradient de concentrație al probei în fluxul de lichid ce iese din aceas-

ta. Dacă volumul probei, S_v , este mult mai mic decît volumul camerei de amestecare, V_m , și dacă soluția probei este amestecată instantaneu și omogen în camera de amestecare, se poate scrie:

$$C_v/C^0 S_v = e^{-t/\bar{T}} \quad (4.8)$$

unde C este concentrația probei ce părăsește camera de amestecare la timpul t după ce a avut loc injectarea și $\bar{T}$ este timpul mediu de rezidență al probei, egal cu V_m/Q (considerînd volumul celorlalte componente din montajul FIA neglijabil comparativ cu volumul camerei de amestecare).

La timpul $t = 0$, atunci cînd proba pătrunde în camera de amestecare, $C = C^0 S_v/V_m$. Timpul necesar ca orice valoare a lui C să scadă la jumătate, notat cu $t_{1/2}$ este dat de relația:

$$t_{1/2} = 0,693 V_m/Q \quad (4.9)$$

Cu ajutorul relației (4.9) se poate calcula timpul necesar pentru ca valoarea semnalului înregistrat să revină la linia de bază. De exemplu este necesară o valoare a timpului de $4t_{1/2}$ pentru a se atinge linia de bază în limita unei erori de 6%.

Se poate trage concluzia că prezența unei camere de amestecare nu este în general de dorit în montajele FIA, aceasta ducînd la o scădere apreciabilă a sensibilității determinărilor și la micșorarea marcantă a numărului de analize ce pot fi efectuate în unitatea de timp.

Sînt totuși o serie de situații în care metodele FIA se bazează pe utilizarea unei camere de amestecare. Astfel, datorită coeficienților de dispersie foarte mari ce se pot obține (valori de ordinul miilor) și gradientul de concentrație exponențial pe care îl generează, o cameră de amestecare permite diluarea unor probe prea concentrate într-un mod strict reproductibil. Este cazul analizelor FIA aplicat la controlul unor procese industriale. Probele de analizat sînt deseori viscoase, foarte concentrate și prezintă o matrice chimică ce poate perturba determinările analitice. Astfel de probe nu pot fi analizate utilizînd un montaj FIA obișnuit, în care se folosesc tuburi cu diametru foarte mic.

Camerele de amestecare au fost utilizate și pentru efectuarea titrărilor FIA în prima variantă [7], în care acestea s-au utilizat pentru a crește dispersia zonei injectate (cap.4.5.7.5). De asemenea, acestea au mai fost folosite pentru a realiza diluarea automată a unor probe [8] sau pentru trasarea automată a curbei de calibrare în cazul spectrofotometriei de absorbție atomică [9].

Gisin și colab. [10] arată că în determinările FIA bazate pe utilizarea gradientilor de concentrație și în care se ating valori mari ale coeficienților de dispersie ($2000 > D > 50$) este indicată folosirea unei camere de amestecare pentru a se obține o precizie maximă.

Dispersia în reactori cu umplutură. Comportarea reactorilor cu umplutură este bine cunoscută din cromatografie. Umplutura unei coloane prin care circulă un fluid determină o modificare accentuată a profilului parabolic al vitezelor, caracteristic curgerii laminare. Cu cât diametrul particulelor ce constituie umplutura este mai mic, cu atât efectul va fi mai pronunțat, iar dispersia probei va fi mai mică. Totuși, asemenea reactori nu și-au găsit aplicații deosebite în FIA. Principalul lor dezavantaj fiind rezistența hidrodinamică mult mai mare a unor asemenea coloane, ceea ce necesită utilizarea unor presiuni mari. Aceasta complică din punct de vedere tehnic un montaj FIA, care în general are marele avantaj al simplității.

Aplicații interesante în FIA și-au găsit reactorii ce au drept umplutură mici sfere de material inert înșiruite una după alta în tub, sfere ce au diametrul de ordinul 60% din diametrul interior al tubului.

Acest tip de reactor a fost utilizat în FIA pentru prima dată de către Reijn și colab. [11]. Utilizarea lor constituie metoda cea mai eficientă de a mări dispersia radială a probei într-un reactor tubular și prezintă următoarele avantaje:

- dispersia este de aproximativ o zecime din cea corespunzătoare unor tuburi fără umplutură de aceleași dimensiuni;
- coeficienții de dispersie și deci înălțimile picurilor sînt aproape independente de debit, în domeniul 0,2 - 1,5 mL/min;
- numărul de probe ce pot fi analizate este mult mai mare (pînă la 500 de probe pe oră);
- picurile obținute sînt simetrice, chiar și în condițiile utilizării unei lungimi a tubului și a unui debit al fluxului, caracteristice pentru FIA.

Acest tip de reactor, datorită umpluturii, prezintă un raport al suprafeței interioare/volumul lichidului, mult mai mare decît al reactorilor constituiți din tuburi goale. Aceasta poate fi un avantaj atunci cînd la efectuarea determinărilor sînt necesare interacții între lichid și suprafața umpluturii (utilizarea unor enzime sau reactivi imobilizați, schimbători de ioni etc.) sau poate constitui un dezavantaj atunci cînd interacțiile la interfața celor două faze nu sînt dorite (fenomene de adsorbție). De remarcat că acești reactori se pot

destul de ușor colmata cu particule solide sau pot reține mici bule de aer, ambele fenomene fiind dăunătoare.

4.2.2.5. Dispersia zonei unei probe în fluxul transportor la utilizarea unui sistem FIA cu o singură linie și cu două sau mai multe linii

La injectarea unei probe într-un flux transportor are loc dispersia acesteia în flux, detectorul punând în evidență un semnal caracteristic (fig. 4.3.b) care corespunde gradientului de concentrație al probei. Adeseori fluxul transportor este constituit dintr-un reactiv cu care proba de analizat trebuie să reacționeze în vederea formării unui produs care va fi apoi măsurat (de exemplu cazul unor determinări bazate pe absorbția radiației). Pentru formarea produsului de reacție dintre specia de analizat și reactiv, aceștia trebuie să se amestece într-o anumită măsură, avînd loc de fapt o dispersie a probei în fluxul de reactiv și a reactivului în proba transportată. În mod asemănător cu coeficientul de dispersie pentru probă, D , se poate defini un coeficient de dispersie pentru reactiv, D_R , dat de relația:

$$D_R = C_R^0 / C_R \quad (4.10)$$

unde C_R^0 reprezintă concentrația inițială a reactivului din fluxul transportor și C_R reprezintă concentrația de reactiv în elementul de fluid pentru care se definește dispersia și în care se măsoară semnalul analitic.

Dacă determinarea concentrației speciei de analizat se face pe baza măsurării înălțimii sau a suprafeței picului FIA înregistrat, este necesar ca în toate porțiunile zonei injectate să se dispersează în fluxul transportor să fie un exces suficient de reactiv, astfel ca să se poată forma produsul de reacție. Pentru aceasta, se folosește o soluție mult mai concentrată de reactiv decît concentrația probei injectate. Această modalitate de asigurare a excesului de reactiv poate să nu fie suficientă în anumite cazuri.

Asigurarea unui exces de reactiv pentru formarea unui produs de reacție cu specia de dozat depinde în mare măsură de sistemul FIA utilizat, se poate fi cu una sau mai multe linii. Sistemele FIA cu două sau mai multe linii oferă avantaje clare față de cele cu o singură linie, atunci cînd, pentru formarea unui produs de reacție, se urmează să fie pus în evidență de detector, este necesar un exces suficient de mare de reactiv în toate porțiunile zonei dispersate.

Sisteme FIA cu o singură linie

În fig. 4.10 se prezintă forma gradientului de concentrație al

unei probe injectate și al reactivului din fluxul transportor ~~pentru~~ montaj cu o singură linie (fig.4.3.). În centrul zonei injectate proba are concentrație maximă, $C_S^{\max}$, iar de o parte și de alta a maximumului are concentrația C_S . Concentrația reactivului din fluxul transportor prezintă o variație inversă a concentrației, comparativ cu a probei.

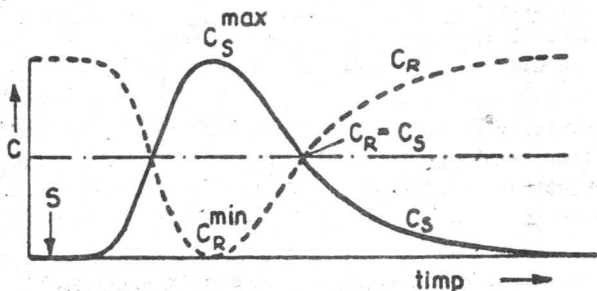


Fig. 4.10. Aspectul gradientilor de concentrație, al probei (S) și al reactivului (R) rezultați în urma unui proces de dispersie reciprocă într-un sistem FIA cu o singură linie. S este punctul de injectare corespunzând lui t_0 . Concentrațiile inițiale ale probei și reactivului sînt C_S^0 și C_R^0 .

Cei doi gradienti de concentrație, al probei și al reactivului, fiind de fapt simetrici, corespund cu obiectul și imaginea sa din oglindă. La punctele de intersecție ai celor doi gradienti de concentrație, coeficientul de dispersie al probei, D_S și al reactivului, D_R , au aceeași valoare egală cu 2. În punctul în care concentrația probei are valoare maximă, $C_S^{\max}$, concentrația reactivului este minimă, $C_R^{\min}$, ceea ce desigur constituie un dezavantaj.

În anumite situații, atunci cînd în centrul zonei injectate coeficientul de dispersie al probei tinde spre 1, coeficientul de dispersie al reactivului va tinde corespunzător spre zero. În centrul zonei injectate nu se va mai putea forma produsul de reacție, iar proba injectată va determina apariția a două picuri [12].

În această situație este evident că determinarea nu se va mai putea face prin măsurarea înălțimii picurilor.

Fang și colab. [13] au arătat că :

$$1/D_S + 1/D_R = 1 \quad (4.11.)$$

și deci:

$$D_R = D_S / (D_S - 1) \quad (4.12)$$

din care rezultă că în sistemele FIA cu o singură linie profilurile ce indică gradientii de concentrație ai probei și reactivului se intersectează pentru valorile coeficienților de dispersie, $D_R = D_S = 2$.

Dacă într-un punct al zonei injectate, caracterizat prin coeficientul de dispersie D_S , concentrația reactivului trebuie să fie egală cu concentrația probei, trebuie îndeplinită următoarea condiție:

$$C_S^0 = C_R^0 (D_S - 1) \quad (4.13)$$

relație care poate fi dedusă din relația (2.12) ținând seama că $C_S^0 = C_S D_S$.

Interpretând ecuația (4.13) putem spune că la utilizarea unui sistem FIA cu o singură linie, pentru a avea un exces de reactiv într-un anumit punct al unei zone injectate de concentrație inițială C_S^0 , putem proceda în două moduri:

- a) prin mărirea concentrației inițiale a reactivului, C_R^0 , din fluxul transportor;
- b) prin mărirea dispersiei probei injectate.

Sistemele FIA cu o singură linie prezintă dezavantajul major că la utilizarea lor este relativ dificil de a asigura un exces suficient de reactiv în toate punctele probei injectate. Aceste sisteme își găsesc aplicații deosebite în cazurile în care detecția nu se face pe baza proprietăților unui compus format de specia de dozat cu reactivul din fluxul transportor, ci specia este măsurată ca atare (determinări prin absorbția atomică, flamfotometrie, determinări de pH). De asemenea, sistemele cu o singură linie își găsesc aplicații în cazul titrărilor FIA (cap.4.5.7.5.)

Sisteme FIA cu două sau mai multe linii

În fig.4.11 se prezintă un sistem FIA cu două linii și profilul concentrației reactivului și al probei injectate în fluxul transportor.

Pe baza datelor prezentate în fig.4.11 se poate spune că:

- dispersia reactivului nu este influențată de dispersia zonei probei. Concentrația sa este constantă pentru întreaga zonă a probei. Dispersia reactivului este influențată numai de raportul dintre debitul fluxului purtător în care este injectată proba și al fluxului de reactiv;
- coeficientul de dispersie al probei la maximul picului, $D_S^{\max}$,

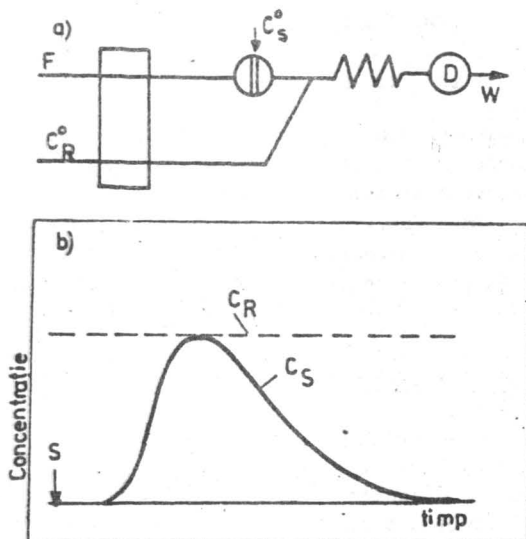


Fig.4.11. a) Schema unui montaj FIA cu două linii. Concentrația inițială a reactivului C_R^0 , concentrația inițială a probei injectate, C_S^0 . Concentrațiile reactivului și probei ce ajung la detector sînt notate cu C_R , C_S . Proba este injectată într-un flux transportor, F . b) Profilul de concentrație al reactivului și al zonei injectate.

nu poate atinge valoarea 1 chiar pentru valori mari ale volumului probei injectate. Dispersia probei va depinde de asemenea de raportul dintre debitul fluxului transportor al probei și debitul reactivului.

Se poate trage concluzia că sistemele FIA cu două sau mai multe linii oferă avantaje certe față de cele cu o singură linie, în special atunci cînd dorim să avem un anumit exces al concentrației reactivului în toate porțiunile zonei injectate.

În cazul unui sistem FIA cu mai multe linii situația este asemănătoare cu cea prezentată pentru sistemele cu două linii. Pentru aceste sisteme se aplică relația generală.

$$1/D_S + 1/D_{R_1} + 1/D_{R_2} \dots = 1 \quad (4.14)$$

unde D_S , D_{R_1} și D_{R_2} sînt valorile coeficienților de dispersie ai probei, respectiv ai reactivilor, ce se obțin în fluxul rezultat prin conflu-

ența fluxurilor individuale.

B I B L I O G R A F I E

1. Ruzicka, J., Hansen, E.H. și Zagatto, E.A., Anal.Chim.Acta, 1977, 88, 1.
2. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal.Chim.Acta, 1978, 99, 37.
3. Tijssen, R., Anal.Chim.Acta, 1980, 114, 71.
4. Lieclerc, D.F., Bloxham, P.A. și Toren, Jr. E.C., Anal.Chim.Acta, 1986,
184, 173.
5. Engelhardt, H. și Klinker, R., Fresenius Z. Anal.Chem., 1984, 317, 671.
6. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., "Flow Injection Analysis", Wiley, 1981.
7. Ruzicka, J., Hansen, E.H. și Mosbaek, H., Anal.Chim.Acta, 1977, 92, 235.
8. Stewart, K.K., Anal.Chem., 1983, 55, 931 A.
9. Tyson, J.F., Mariara, J.R. și Appleton, J.M., J. Anal. Atom. Spectrom.,
1986, 1, 273.
10. Gisin, M., Mhommen, C. și Mansfield, K.F., Anal.Chim.Acta, 1986, 179, 149.
11. Reijn, J.M., van der Linden, W.E. și Poppe, H., Anal.Chim.Acta, 1981,
123, 229.
12. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal.Chim.Acta, 1986, 180, 41.
13. Fang, Z., Harris, J.M., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal.Chem., 1985,
57, 1457.
14. Ramsing, A.U., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal.Chim.Acta, 1981, 129, 1.

4.3. Aspecte teoretice ale analizei prin injectare în flux

4.3.1. Considerații teoretice generale

Pentru a explica forma semnalelor înregistrate în FIA, precum și influența diferiților parametri asupra acestora, vom discuta pentru început diferitele moduri de transport ale materiei într-un flux de lichid ce se deplasează printr-un tub.

Sînt două moduri principale de transport ale materiei într-un flux de lichid, prin convecție și prin difuzie (se consideră cazul cel mai simplu cînd nu acționează și alte forțe, cum ar fi de exemplu un câmp electric).

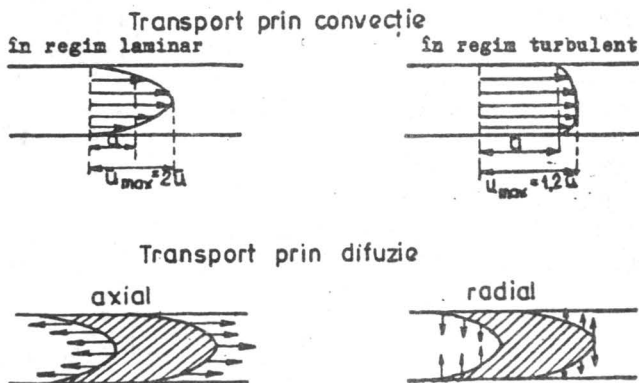


Fig.4.12. Moduri de transport ale materiei într-un tub.

În funcție de condițiile experimentale concrete, transportul prin convecție poate determina o curgere turbulentă sau laminară. Profilul de viteză al unei zone ce se deplasează este net diferit pentru cele două tipuri de curgere. În cazul curgerii laminare se realizează un profil parabolic caracteristic al vitezelor de curgere corespunzătoare diferitelor zone (fig. 4.12)

Pentru tuburi drepte cu secțiune circulară, curgerea turbulentă apare pentru valori ale numărului lui Reynolds mai mari de aproximativ 2000. Pentru valori mai mici ale acestui număr, curgerea este laminară.

Numărul lui Reynolds, Re , definit prin relația de mai jos se referă la viteza de curgere pentru care se trece de la un tip de curge-

re la altul.

$$Re = \frac{2R\bar{u}\rho}{\eta} = \frac{2R\bar{u}}{\nu} \quad (4.15)$$

unde:

R - raza tubului, m,

$\bar{u}$ - viteza liniară de curgere medie, ms^{-1} ,

ρ - densitatea, kgm^{-3} ,

η - vîscozitatea dinamică, $\text{Pa}\cdot\text{s}$,

ν - vîscozitatea cinematică, m^2s^{-1} .

În FIA nu se lucrează niciodată la valori ale numărului lui Reynolds mai mari de cîteva sute, iar transportul de materie de-a lungul tubului va avea loc prin curgere laminară.

O zonă injectată într-un montaj FIA suferă un proces de dispersie în fluxul transportor. Acest proces poate fi explicat luînd în considerare doi factori:

a) transportul prin convecție în condiții de curgere laminară, ce determină un profil parabolic al vitezelor de curgere. În centrul tubului viteza va fi cea mai mare, $u_{\max}$, iar la suprafața peretelui tubului moleculele probei vor avea viteza practic 0. Vitezele diferitelor porțiuni corespunzătoare profilului de curgere laminară vor fi date de relația:

$$u = u_{\max} \left(1 - \frac{r^2}{R^2} \right) \quad (4.16)$$

unde:

R - raza tubului;

r - distanța din punctul respectiv la centrul tubului.

Moleculele din centrul tubului vor avea $u_{\max} = 2\bar{u}$, $\bar{u}$ fiind viteza medie a fluxului;

b) transportul prin difuzie, datorită gradientilor de concentrație formați în urma curgerii laminare. Acest transport poate fi axial sau radial. Transportul prin difuzie axială, ce apare datorită gradientilor de concentrație din partea anterioară și posterioară a zonei injectate contribuie într-o măsură nesemnificativă la dispersia totală a probei.

Transportul prin difuzie radială, după cum se vede din fig.4.12 perpendicular pe direcția de curgere, contribuie într-o măsură mare la dispersia pe ansamblu a zonei injectate. Acest mod de transport are o importanță deosebită în explicarea alurei caracteristice a semnalelor înregistrate în FIA.

Datorită transportului prin difuzie radială se modifică apreciabil profilul parabolic caracteristic deplasării unei zone injectate

-intr-un flux. Moleculele probei injectate care se află în centrul tubului și care se deplasează cu viteza maximă, vor difuza spre pereți, pătrunzind în zone în care viteza fluidului este mai mică, micșorându-și astfel și ele viteza de deplasare.

Moleculele probei injectate ce se află în apropierea pereților tubului și care rămân în urmă (viteză de deplasare practic 0) vor difuza spre centrul tubului, mărindu-și astfel viteza.

Aceste procese sînt de importanță deosebită în explicarea faptului, că fiecare probă injectată își menține integritatea la deplasarea sa într-un montaj FIA. Transportul prin difuzie radială micșorează viteza transportului prin convecție al probei și împiedică dispersia accentuată a acesteia, de-a lungul întregului montaj FIA, așa cum ne-ar sugera profilul parabolic al vitezelor, caracteristic curgerii laminare (ecuația (4.12)).

Difuzia este un proces ce decurge în timp și din acest motiv profilul de concentrație al unei probe injectate, deci dispersia sa într-un flux, este funcție de timpul scurs de la injectarea probei. Pentru valori mici ale timpului, predominant este transportul prin convecție, pentru valori ceva mai mari ale timpului, își face simțită influența și transportul prin difuzie, iar pentru valori suficient de mari, forma picului este determinată de transportul prin difuzie al probei.

În fig. 4.13 se prezintă profilul de concentrație al unei zone injectate ce este transportată de un flux, în cazul a patru situații caracteristice, precum și forma semnalelor înregistrate.

La injectarea în flux, profilul concentrației probei corespunde unui dreptunghi.

La începutul deplasării probei în flux, pentru valori de timp mai mici de o secundă, modul predominant de transport este prin convecție, iar profilul zonei este parabolic. Înregistrarea obținută prezintă o porțiune inițială verticală, care corespunde vîrfului parabolei și o trenă destul de pronunțată datorată moleculelor speciei de analizat întîrziate în deplasare (deoarece se află mai departe de centrul tubului).

În scurt timp după începutul deplasării zonei, începe să devină important transportul prin difuzie, în special radială, care intră în competiție cu transportul prin convecție. Aceasta face ca viteza de deplasare a centrului zonei injectate, unde concentrația probei este maximă să se reducă și în schimb să crească viteza de deplasare a moleculelor rămase în urmă.

Acest mod de transport al probei prin convecție și prin difu-

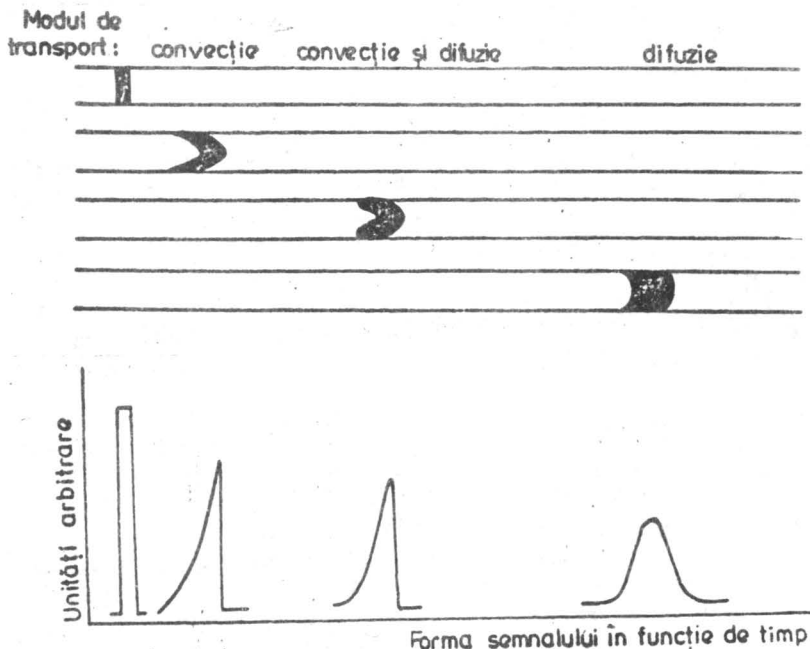


Fig.4.13. Dispersia unei probe și forma semnalelor înregistrate în funcție de factorii principali ce determină dispersia.

zie este caracteristic pentru FIA și corespunde unor valori ale timpului scurs de la injectarea probei pînă la detecție, de ordinul secundelor pînă la cîteva zeci de secunde.

Pentru valori mari ale timpului de deplasare al unei zone în flux, de ordinul sutelor de secunde, contribuția difuziei radiale la formarea profilului de concentrație al zonei injectate poate fi mai importantă decît a transportului prin convecție. Profilul zonei devine mai compact, iar forma semnalului înregistrat se apropie mult de o curbă de tip Gauss. În FIA nu se lucrează în astfel de condiții, iar forma semnalului înregistrat nu are aspectul unei curbe Gauss.

4.3.2. Modele teoretice pentru dispersia probei în FIA

Luînd în considerare atît transportul prin convecție cît și prin difuzie, deplasarea masei unui component, într-un flux este descrisă

cd 309 / 1992 *data* ✕

prin următoarea ecuație diferențială parțială [1].

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \vec{u} \nabla C = \nabla (\vec{D} \nabla C) + R_A \quad (4.17)$$

în care R_A este un termen ce corespunde producerii sau dispariției compusului respectiv. Dacă nu luăm în considerare reacțiile chimice care pot duce la formarea sau la dispariția compusului respectiv, acest termen poate fi neglijat. C este concentrația compusului

t este timpul, $\vec{u}$ reprezintă vectorul vitezei, iar $\vec{D}$ este un coeficient de dispersie neizotrop.

În cazul unui lichid ce circulă printr-un tub, deplasarea lichidului se va face în primul rând în direcția axială, x . Dacă luăm în considerare o simetrie radială, ecuația 4.17 poate fi scrisă:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + u_x \frac{\partial C}{\partial x} = \frac{\partial}{\partial x} D_L \frac{\partial C}{\partial x} + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} r D_R \frac{\partial C}{\partial r} \quad (4.18)$$

Ecuația de mai sus este prea complexă pentru a putea fi rezolvată. De obicei se fac următoarele ipoteze simplificatoare:

- 1) coeficienții de dispersie axiali și radiali (D_L și D_R) se consideră că nu depind de poziție (modelul dispersiei uniforme);
- 2) se consideră viteza constantă și egală cu valoarea sa medie $\bar{u}$.

Efectul profilului de viteză asupra dispersiei este în acest caz cuprins în coeficienții de dispersie (modelul zonei dispersate). Se consideră de asemenea că nu sînt variații ale proprietăților în direcția radială.

Modelul rezultat al zonei dispersate axial, poate fi mult mai ușor tratat matematic, fiind descris de ecuația:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \bar{u} \frac{\partial C}{\partial x} = D'_L \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (4.19)$$

C poate fi calculat în funcție de timp la $x = L$. Pentru o zonă injectată de grosime infinit mică (injectate sub forma unui puls perfect, sau injectare delta), C se poate exprima prin relația:

$$C = \frac{1}{2} C_m^0 \left(\frac{\bar{u} L / D'_L}{\sqrt{\pi} \theta} \right)^{1/2} \exp \left[- \frac{(\bar{u} L / D'_L) (1 - \theta)^2}{4 \theta} \right] \quad (4.20)$$

unde $\theta = t \bar{u} / L = t / T$. C_m^0 reprezintă concentrația rezultată dacă întreaga cantitate a componentului s-ar distribui omogen în întregul tub.

Deci:

$$C_m^0 = \frac{m}{\pi R^2 L} \quad ; \quad (4.21)$$

unde m este masa totală a speciei injectate, $\bar{u}L/D'_L$ este un grup de termeni fără dimensiuni de tip Péclet și va fi notat cu Pe'_L .

Reprezentînd C/C^0 în funcție de θ se obține o serie de curbe caracteristice, a căror alură este dată de valoarea raportului $\bar{u}L/D'_L = Pe'_L$. Cu cît valorile Pe'_L cresc, curbele devin mai simetrice, iar maximul acestora tinde să se plaseze în dreptul valorii $\theta = 1$.

Pentru valori mari ale Pe'_L , mai mari de 100, se obține o curbă de tip Gauss, a cărei deviație standard în funcție de θ și de t are următoarele valori:

$$\sigma_{\theta}^2 = \frac{2}{Pe'_L} + \frac{8}{(Pe'_L)^2} \approx \frac{2}{Pe'_L} = \frac{2D'_L}{\bar{u}L} \quad (4.22)$$

respectiv:

$$\sigma_t^2 = \frac{L^2}{\bar{u}^2} \sigma_{\theta}^2 = \frac{2D'_L \cdot L}{\bar{u}^3} \quad (4.23)$$

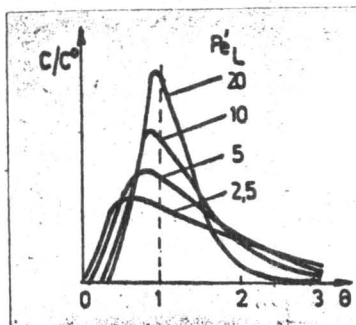


Fig.4.14. Curbele de răspuns corespunzătoare unei injectări delta și pentru diferite valori ale raportului $\bar{u}L/D'_L$ (numărul Péclet). S-a luat în considerare modelul zonei dispersate axial.

Acest model teoretic este foarte bine verificat de datele experimentale, cu condiția să se utilizeze valori adecvate pentru D'_L . Valoarea D'_L nu poate fi determinată însă decît experimental și nu poate fi corelată direct cu parametrii geometrici sau fizici ai sistemului.

Taylor [2] a reușit însă să demonstreze că în anumite condiții valoarea D'_L poate fi corelată cu coeficientul de difuzie, raza tubului și viteza liniară medie a fluxului.

4.3.2.1. Modelul Taylor

Se consideră că la formarea profilului de concentrație al zonei injectate într-un flux, pe lângă transportul prin convecție o contribuție foarte mare are și difuzia radială. Forma curbei obținute va fi cu un profil mai mult sau mai puțin Gaussian. Maximul curbei va fi la $\bar{T} = L/\bar{u}$. Acest tip de dispersie după Taylor va apare în condițiile în care:

$$\bar{T} \gg \frac{R^2}{(3,8)^2 D_m} \quad (4.24)$$

unde D_m este coeficientul de difuzie moleculară. Exprimat în unități de tip redus, $\bar{z}$:

$$\bar{z} = \frac{\bar{T} D_m}{R^2} \gg 0,07 \quad (4.25)$$

În aceste condiții Taylor a putut deduce o expresie pentru D'_L :

$$D'_L = \frac{R^2 \bar{u}^2}{48 D_m} \quad (4.26)$$

Înlocuind în relația (4.23) se obține:

$$\bar{V}_t^2 = \frac{\bar{T} R^2}{24 D_m} \quad (4.27)$$

Aplicarea acestui model pentru condițiile experimentale obișnuite din FIA a fost discutată de mai mulți autori [3-8].

Modelul Taylor este destul de dificil de aplicat în FIA, deoarece este valabil pentru debite mici și la utilizarea unor tuburi foarte lungi, mai puțin folosite în această tehnică.

Curbele $C = f(t)$ obținute aplicând modelul Taylor au aspectul unor curbe de tip Gauss și în funcție de parametrii aleși pot fi scrise sub forma ecuațiilor:

$$C = \frac{m}{R^2 4 \pi D_m t} \exp \left[-\frac{(x - L)^2}{4 D_m t} \right] \quad (4.28)$$

$$C = \frac{C^0 V_s}{Q \sqrt{t} (2\pi)^{1/2}} \exp \left[-\frac{(t - \bar{T})^2}{2 \bar{V}_t^2} \right] \quad (4.29)$$

unde: m este masa de substanță injectată egală cu $C^0 V_s$, C^0 fiind concentrația probei injectate, iar V_s volumul acesteia; x este distanța axială de la punctul de injectare; L este lungimea canalului; Q este debitul, iar $\bar{V}$ este deviația standard corespunzătoare unei distribuții de tip Gauss.

Painton și Mottola [3] au verificat aplicabilitatea modelului Taylor în cazul FIA comparând curbele $C = f(t)$ simulate cu ajutorul unui calculator, cu curbele reale obținute cu ajutorul unui montaj FIA în condiții de lucru obișnuite pentru această tehnică. Concluzia a fost că modelul Taylor nu este cu adevărat adecvat pentru a explica forma semnalelor înregistrate în FIA.

4.3.2.2. Modelul vaselor în serie

Acest model consideră curgerea unui lichid printr-un tub, asimilabilă cu trecerea sa printr-un număr mare (N) de vase minuscule așezate în serie și în care agitarea este perfectă (amestecarea instantanee).

Acest model a fost aplicat la FIA de către Ruzicka și Hansen [5] iar apoi de către Betteridge [8]. Descrierea FIA aplicând modelul vaselor în serie este analogă cu descrierea cromatografiei de lichide aplicând conceptul de taler teoretic echivalent.

Expresia matematică derivată din acest model este [10]:

$$C = \frac{1}{\bar{T}_1} \left(\frac{t}{\bar{T}_1} \right)^{N-1} \frac{1}{(N-1)!} e^{-t/\bar{T}_1} \quad (4.30)$$

unde $\bar{T}_1$ este timpul mediu de rezidență a unui element de fluid într-un anumit vas. Cu creșterea valorii lui N profilul curbei $C = f(t)$ tinde spre o formă Gauss-iană (fig. 4.15).

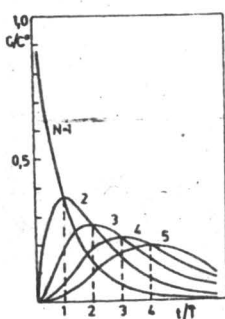


Fig.4.15. Profilul curbelor $C = f(t)$ obținute pentru unu, două, trei, patru și cinci vase în serie.

Admițând că forma curbei $C = f(t)$ are un profil Gauss-ian, $N \gg 10$, varianța, σ_t^2 , va fi dată de relația:

$$\sigma_t^2 = N(\bar{T}_1)^2 = \frac{\pi^2}{N} \quad (4.31)$$

deoarece timpul mediu total de rezidență $\bar{T}$ este egal cu $N\bar{T}_1$.

Nu este practic nici o diferență între aplicarea modelului Taylor și a modelului vaselor în serie pentru valori ale lui N mari.

Painton și Mottola [3] arată că totuși, pentru un sistem FIA obișnuit modelul vaselor în serie este mai în concordanță cu datele experimentale decât modelul Taylor.

Cazul extrem al acestui model este cel corespunzător prezenței unei singure camere de amestecare $N = 1$. În această situație relația (4.30) se reduce la:

$$C = C^0 e^{-t/\bar{T}} \quad (4.32)$$

unde C este concentrația probei ce părăsește camera de amestecare, iar C^0 este concentrația inițială, când întreaga probă se găsește în camera de amestecare. În acest mod se poate crea un gradient de concentrație exponențial bine definit. Folosind un asemenea gradient de concentrație se pot efectua titrări FIA bazate pe dispersie mare a probei, titrări FIA bazate pe o dispersie medie și limitată, calibrarea automată [9] și diluarea cu mare precizie a unor probe [10].

Modelul vaselor în serie a fost utilizat pentru descrierea teoretică a comportării unui flux de lichid pentru diferite tipuri de reactori FIA.

4.3.2.3. Modelul general

Ecuatia (4.18) poate fi scrisă într-o altă formă:

$$D_m \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right) = \frac{\partial C}{\partial t} + 2\bar{u} \left(1 - \frac{r^2}{R^2} \right) \frac{\partial C}{\partial x} \quad (4.33)$$

Această ecuație ne descrie profilul de concentrație al unei probe injectate distribuită inițial orogen, în urma transportului prin convecție și difuzie.

Ecuatia (4.33) a fost derivată aplicând un bilanț al masei pentru un element diferențial de volum al fluidului și luând în considerare gradientii de concentrație axiali și radiali, precum și profilul vitezelor, specific curgerii laminare. Termenul din stînga corespunde transportului prin difuzie al moleculelor probei. Primul termen din dreapta corespunde variației concentrației în timp, care apare numai în regim nestaționar, iar cel de al doilea termen ține seama de contribuția transportului prin convecție și pentru care profilul de viteză este parabolic (ecuția (4.16)).

S-au făcut mai multe încercări de a găsi soluții ecuației (4.33) Vanderslice și colab. [11] au putut calcula următoarele valori pentru timpul scurs de la injectarea probei și apariția picului la detector,

t_a , și lățimea picului la bază, Δt_b :

$$t_a = 109 R^2 D_m^{0,025} (L/Q)^{1,025} f^{-1} \quad (4.34)$$

și

$$\Delta t_b = \frac{35,4 R^2 f}{D_m^{0,36}} (L/Q)^{0,64} \quad (4.35)$$

R și L sînt exprimate în cm, Q în mL/min și D_m în $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$; f este un factor de acomodare care trebuie determinat experimental. În funcție de condițiile experimentale valoarea lui f este cuprinsă între 0,5 și 1,0.

Ambele ecuații sînt utile la determinarea coeficienților de difuzie, D_m , și confirmă observațiile precedente, că dispersia crește cu pătratul razei tubului și cu rădăcina pătrată a lungimii parcurse.

Vanderslice și colab. [12] precum și Wada și colab. [13] au calculat pentru diferite valori ale timpului redus (ecuația (4.25)) concentrațiile relative în diferite puncte ale materialului unei zone injectate ce se dispersează într-un flux. În toate cazurile s-a utilizat același volum și concentrație a probei injectate și aceeași metodă de injectare.

În fig. 4.16 se prezintă aspectul zonelor de aceeași concentrație în funcție de ζ și alăturat, forma curbelor FIA înregistrate.

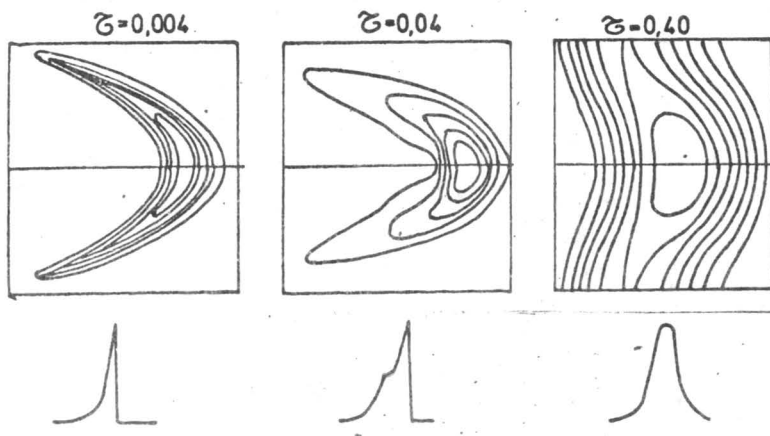


Fig. 4.16. Profiluri de concentrație calculate pentru o zonă injectată, în funcție de timp și curbele de răspuns corespunzătoare.

Pentru valori ale lui $\zeta < 0,01$ pentru care transportul probei este

prin difuzie radială este neglijabil, picul se prezintă sub forma unei creșteri bruște în porțiunea inițială, urmată de o descreștere exponențială.

Pentru un timp de rezidență mare, $\tau > 0,4$, se înregistrează un pic aproape Gauss-ian.

Pentru timpi intermediari se obține un pic specific cu un umăr. Formarea unor picuri de această formă a fost observată de aceeași autor într-o lucrare precedentă [11].

B I B L I O G R A F I E

1. Llevenspiel, O. și Bischoff, K.B., Adv. Chem. Eng., 1963, 4, 95.
2. Taylor, G.J., Proc. Roy. Soc (London) A., 1953, 219, 186.
3. Painton, C.C. și Mottola, H.A., Anal. Chim. Acta, 1983, 154, 1.
4. Painton, C.C. și Mottola, H.A., Anal. Chim. Acta, 1984, 158, 67.
5. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1978, 99, 37.
6. Ruzicka, J. și Hansen, E.H. "Flow Injection Analysis", Wiley, New York, 1981.
7. Harris, J.M., Anal. Chem., 1982, 54, 2337.
8. Betteridge, D., Anal. Chem., 1978, 50, 832 A.
9. Tyson, J.F., Anal. Chim. Acta, 1986, 180, 51.
10. Gisin, M., Thommen, C. și Mansfield, J., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 131.
11. Vanderslice, J.T., Stewart, K.K., Rosenfeld, A.G. și Higgs, D.J., Talanta, 1981, 28, 11.
12. Vanderslice, J.T., Rosenfeld, A.G. și Beecher, G.R., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 119.
13. Wada, H., Hiraoka, S., Yuchi, A. și Nakagawa, G., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 181.

4.4. Componentele de bază ale unui sistem de analiză prin injectare în flux

Se poate considera că toate dispozitivele de analiză prin injectare în flux sînt constituite dintr-un număr de unități modulare care, la rîndul lor, sînt formate din unul sau mai multe componente. Termenului de componentă i se va conferi în continuare o accepțiune mai largă. Astfel, prin componentă se va înțelege atît dispozitivul de pompare, tuburile prin care are loc transportul lichidului, dispozitivele de conectare, sistemele de injectare, precum și dispozitivele mai complexe, folosite la mărirea selectivității determinărilor (prin extracție cu solvenți, dializă etc.).

În fig. 4.17. se prezintă schema generală a unui dispozitiv FIA.

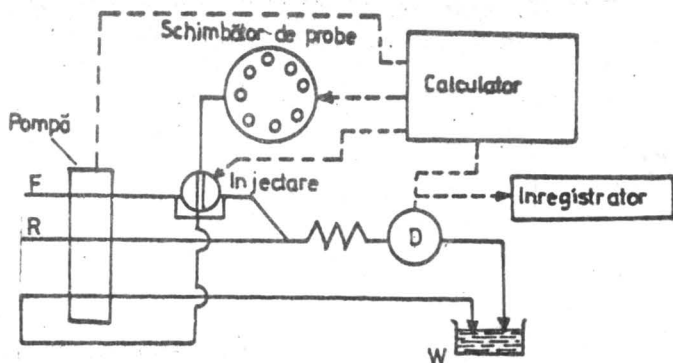


Fig. 4.17. Schema de principiu a unui dispozitiv FIA ce include principalele părți constitutive. F, lichid transportor, R, reactiv, D, detector, W, rezidii.

În continuare vom discuta pe rînd componentele de bază ale unui dispozitiv FIA.

4.4.1. Sisteme de generare a fluxurilor de lichid (pompele)

Sistemul de obținere a fluxurilor de lichid utilizate în FIA trebuie să îndeplinească o serie de cerințe impuse de caracteristicile metodei FIA. Astfel, este de dorit ca debitul fluxului să fie constant și perfect reproductibil pentru a se putea obține o dispersie controlată a probei injectate și un timp de rezidență bine definit. De asemenea, fluxul trebuie să fie fără pulsații.

O caracteristică a FIA este că în cele mai multe cazuri pre-

siunile de lucru sînt mici, foarte rar peste 10 psi, iar debitetele utilizate sînt reduse, de ordinul 0,5 - 3 mL/min.

Pentru obținerea fluxurilor de lichid în FIA se utilizează: presiunea hidrostatică a unei coloane de lichid, presiunea unui gaz (ce acționează asupra lichidului), pompe cu piston de tipul celor utilizate în cromatografia de lichide de înaltă performanță, sau a celor folosite pentru biurete automate și pompe peristaltice.

Sistemul de obținere a unui flux de lichid bazat pe presiunea hidrostatică a unei coloane de lichid furnizează fluxuri de lichid fără pulsații, dar este totuși puțin folosit în practică datorită gamei destul de restrînse a debitelor de lichid ce pot fi obținute și dificultății de a menține constantă înălțimea coloanei de lichid.

Folosirea presiunii unui gaz inert pentru a genera fluxuri de lichid este utilizată la anumite dispozitive FIA comercializate. Prezintă următoarele dezavantaje:

- dificultăți serioase în a avea debite controlate, atunci cînd se utilizează două sau mai multe fluxuri de lichid, ce au puncte de confluență;
- se pot forma cu ușurință bule de gaz, datorită diferenței de solubilitate a gazului în diferite medii lichide (aparitia bulelor de gaz pe traseul unui montaj FIA perturbă foarte mult determinările).

Pompele cu piston de tipul celor utilizate în HPLC pot fi folosite în FIA, însă fluxul de lichid obținut prezintă pulsații accentuate, în special în cazul pompelor cu un singur piston. Pentru fiecare canal FIA va trebui utilizată cîte o pompă. Pulsațiile sînt mult atenuate în cazul pompelor cu două pistoane. Acest tip de pompă este proiectat pentru presiuni de lucru mari (tipice pentru HPLC) și sînt scumpe.

Obținerea fluxurilor cu ajutorul unor biurete automate cu piston [1] prezintă dezavantajul că rezervorul acestora este destul de mic, fiind necesare pauze în funcționarea dispozitivului FIA pentru umplerea biuretei. De asemenea, prețul lor este destul de mare.

Pompele peristaltice sînt cele mai folosite sisteme de propulsie utilizate în FIA. O pompă peristaltică constă dintr-o parte mobilă sub forma unei roți, ce are fixată pe margine un număr de role ce se pot roti în jurul propriilor axe. Pe role se pot presa unul sau mai multe tuburi flexibile, dispuse perpendicular pe acestea, cu ajutorul unei plăci semicilindrice (în anumite montaje se utilizează plăci drepte).

În fig. 4.18 se prezintă principiul de funcționare al unei pompe peristaltice.

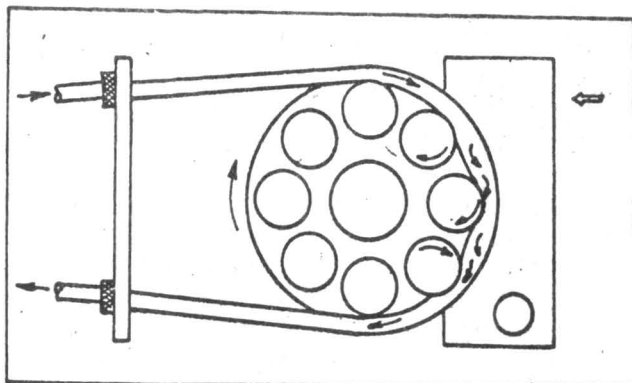


Fig.4.18. Schema de principiu a unei pompe peristaltice.

Pe suprafața tuburilor flexibile trebuie să preseze simultan cel puțin două role, iar viteza de rotație a părții mobile a pompei trebuie să fie de minimum 30 rotații pe minut pentru a se obține un flux cu pulsații reduse. Fluxul dat de o pompă peristaltică nu este niciodată lipsit de pulsații.

În prezent, sînt numeroase firme în lume ce produc pompe peristaltice de o mare diversitate de tipuri.

Pentru a putea fi utilizabilă cu bune rezultate în FIA, o pompă peristaltică trebuie să îndeplinească o serie de cerințe de bază. Astfel, trebuie să aibă cel puțin trei canale, adică cel puțin trei tuburi flexibile, care să poată furniza fluxuri de lichid diferite, al căror debit să fie reglabil. De asemenea, presiunea cu care este apăsător discul semicircular pe suprafața tubului trebuie să fie reglabilă. Este necesar ca debitul să fie în domeniul 0,3-5,0 mL/min pentru fiecare canal. A patra cerință este ca pompa să poată fi pornită și oprită practic instantaneu, acest lucru fiind esențial pentru determinări în flux stopat.

Debitul furnizat de o pompă peristaltică poate fi modificat în două moduri, prin schimbarea diametrului tubului utilizat sau/și modificarea vitezei de rotație a rolelor.

Tuburile utilizate pentru pompele peristaltice sînt fabricate din pvc, cauciuc siliconic, cauciuc etc. Cel mai ieftin și cel mai folosit material este Tygonul, care este transparent și este obținut din pvc. De obicei, aceste tuburi sînt livrate la lungimi de ordinul 30 cm. Pe tub, de o parte și de alta a acestuia, la o distanță de aproximativ 15 cm sînt fixate două inele colorate diferite.

Acestea servesc la fixarea tuburilor în dispozitivul pompei peristaltice și pentru identificarea diametrului interior al tubului, deci și al debitului pe care îl poate furniza.

Tuburile de Tygon sînt utilizate pentru a propulsa soluții apoase sau soluții alcoolice în care conținutul de alcool nu depășește 5% (la concentrații mai mari scade durata de viață a acestora). La utilizarea tuburilor de Tygon, concentrațiile soluțiilor de baze sau acizi nu trebuie să depășească 2M. Atacul tuburilor de către anumite soluții le face inutilizabile în unele situații. Astfel, tuburile de pvc, Solvaflex, Tygon și cauciuc siliconic nu sînt adecvate pentru soluții foarte concentrate de acizi și pentru solvenți organici. Tuburile de Acidflex sînt atacate în special de acetone.

În tabelul 4.2 se prezintă diferite tipuri de materiale din care sînt fabricate tuburile pompei peristaltice și categoriile de soluții sau lichide pentru care pot fi utilizate.

Tabelul 4.2

Tuburi pentru pompe peristaltice și lichidele sau soluțiile la care pot fi utilizate

Materialul tubului	Lichide sau soluții
Tygon, pvc	soluții apoase, soluții alcoolice diluate, formaldehidă, acetaldehidă.
Cauciuc siliconic, pvc, Tygon	soluții diluate de acizi și baze.
Fluoroplaste (Acidflex)	soluții concentrate de acizi și baze
pvc modificat (Solvaflex)	alcooli, hidrocarburi alifaticе.
Cauciuc siliconic	alcooli inferiori, tetraclorură de carbon, acetona, acid acetic, anhidridă acetică.
Tygon	formaldehidă, acetaldehidă.

În cursul funcționării pompei peristaltice, tuburile tind să se ovalizeze și trebuie înlocuite după un timp.

În condiții optime de lucru și la folosirea unor lichide care nu le atacă, tuburile au o durată de viață de la cîteva zeci de ore la peste 1000 de ore de funcționare, aceasta în funcție de natura și calitatea materialului din care sînt fabricate.

Dintre dezavantajele pompelor peristaltice utilizate ca mijloc de transport în FIA menționăm:

a) fluxul de lichid obținut este pulsatoriu. Acest dezavantaj poate fi ameliorat prin încorporarea unui sistem de atenuare, de exemplu un tub suficient de lung prin care trece lichidul înainte de punctul de injectare,

b) nu se pot utiliza pentru a propulsa lichide corozive care atacă tuburile pompei. S-au fabricat tuburi pentru astfel de lichide, dar ele sînt mult mai scumpe decît tuburile obișnuite, Tygon sau cauciuc siliconic, și au o durată de funcționare semnificativ mai mică.

Deoarece în FIA este necesar ca fluxul de lichid utilizat să fie constant este indicată măsurarea sa, care se poate face prin mai multe metode, dintre care menționăm metoda volumetrică, metoda cu bule de gaz și metoda electromagnetică.

Metoda volumetrică este cea mai simplă și se bazează pe măsurarea exactă a volumului de lichid ce curge într-o perioadă de timp.

Metoda cu bule de gaz constă în încorporarea în canalul respectiv a unui debitmetru specific. Acesta se compune dintr-un dispozitiv ce permite introducerea în tub a unui volum fix de gaz (de obicei o bulă de aer), un sistem de detectare constituit din doi senzori plasați la o distanță fixă într-un tub de diametru cunoscut și un dispozitiv de măsurare a timpului. Determinîndu-se timpul necesar ca bula de gaz să treacă între cei doi detectori și cunoscînd și ceilalți parametri ai sistemului se poate determina debitul.

Metoda electromagnetică se bazează pe curentul indus de trecerea unui flux printr-un cîmp magnetic. Deviația standard a determinării debitului prin această metodă este de aproximativ 1%, care se încadrează în limitele permise în FIA.

4.4.2. Sisteme de injectare

La injectarea unei probe într-un flux transportor de reactiv se formează o zonă ce conține proba de analizat și care constituie punctul de plecare pentru fiecare ciclu de determinare. Din acest motiv, operația de injectare trebuie să decurgă într-un mod perfect și reproductibil, fără a se perturba fluxul de lichid. Este necesar ca volumul probei injectate să fie reproductibil, deoarece gradientul de concentrație format în urma transportului acestuia în sistemul FIA este de fapt sursa de informații analitice.

În principiu, sistemele de injectare folosite în FIA pot fi clasificate în două categorii mari: sisteme de injectare bazate pe volum și sisteme de injectare bazate pe timp.

Sistemele de injectare bazate pe volum constau în injectarea

sau inserarea în fluxul nesegmentat a unui anumit volum de probă conținută într-un tub, seringă sau altă cavitate cu volumul bine determinat.

Sistemele de injectare bazate pe timp constau în aspirarea pentru un timp bine definit și la un debit constant a soluției probei printr-un canal în flux din care aceasta este apoi injectată într-un flux transportor, datorită unor forțe hidrostatice și hidrodinamice combinate.

4.4.2.1. Sisteme de injectare bazate pe volum

4.4.2.1.1. Sisteme de injectare cu seringă

Primele sisteme de injectare propuse de Ruzicka și Hansen foloseau seringi fără ac și un montaj de tipul celui prezentat în fig. 4.19.

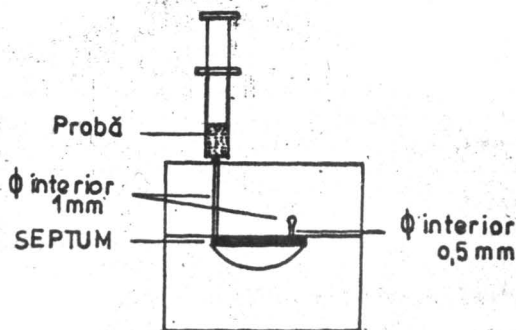


Fig. 4.19. Sistem de injectare cu seringă fără ac.

Principiul de funcționare al sistemului de injectare prezentat în fig. 4.19 este următorul: seringă este umplută cu un volum cunoscut din proba de analizat și este fixată într-un bloc de material plastic prevăzut cu un canal ce face legătura cu un septum de cauciuc. Apăsând pistonul, presiunea rezultată îndepărtează septumul, iar proba poate pătrunde prin orificiul cu diametrul mai mic (0,5 mm) în canalul FIA.

Utilizarea acestei tehnici de injectare necesită îndemânare, iar rezultatele nu sînt prea precise. În prezent este mai puțin utilizată.

Un sistem de injectare adaptat din cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) este prezentat în fig.4.20 [2].

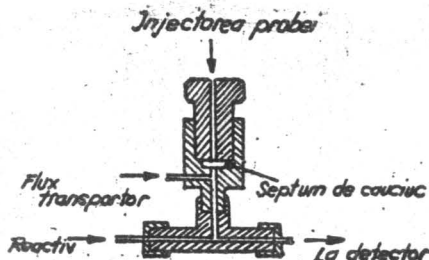


Fig. 4.20. Sistem de injectare cu siringa adaptat din HPLC.

Tinând seama că în FIA se lucrează la presiuni scăzute pot fi imaginate și construite ușor dispozitive de injectare bazate pe același principiu de funcționare ca cel prezentat în fig. 4.20, dar mai ieftine și mai simple.

4.4.2.1.2. Valve de injectare

Valvele de injectare utilizate în FIA pot funcționa prin translație și rotație. Valvele de injectare prin translație au fost propuse de o echipă de cercetători din Brazilia [3]. Principiul de funcționare a unui astfel de valve este prezentat în fig. 4.21.

În varianta cea mai simplă, valva de injectare prin translație constă din trei paralelipipede de material plastic, cel din mijloc mobil, iar celelalte două fixe. Prin acestea sunt practicate orificii la care sunt cuplate tuburile prin care circulă fluxul transportor și respectiv proba de analizat. În poziția de umplere, proba de analizat circulă prin bucla de injectare. Prin deplasarea în jos a părții centrale a valvei are loc injectarea probei în fluxul de reactiv. Valvele de injectare prin translație au o utilizare mai redusă în practică decât cele rotative, deși au aceleași avantaje ca și acestea din urmă și anume: reproductibilitate, rapiditate, domeniu mare al volumelor ce pot fi injectate și posibilități de automatizare.

. / .

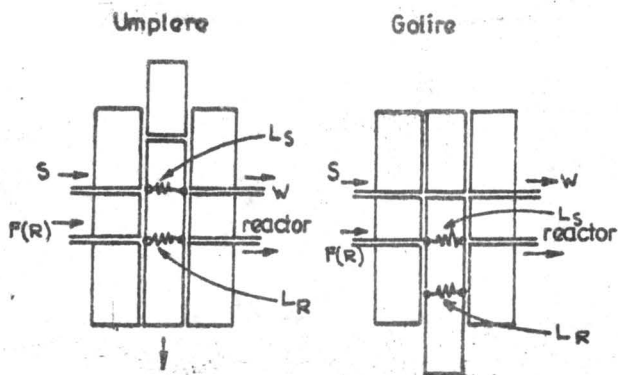


Fig. 4.21. Principiul de funcționare al valvei de injectare prin translație. F, flux transportor, R, reactiv, S, probă, W, rezidii, L_S , bucla probei, L_R , bucla reactivului.

În fig. 4.22 se prezintă schema unei valve de injectare rotative cu patru căi. Principiul său de funcționare este următorul: în poziția de alimentare a buclei de injectare cu probă, soluția probei pătrunde prin punctul 2, circulă între punctele 1 și 4 și iese la rezidii prin punctul 3. În acest timp, fluxul purtător pătrunde prin punctul 6 și iese prin punctul 5.

În poziția de injectare, punctul 6 prin care intră fluxul transportor în valvă este conectat în interiorul valvei (prin rotirea acesteia) cu punctul 1 antrenând proba în sistemul FIA prin punctele 4 și 5, de asemenea conectate între ele. În acest timp proba circulă între punctele 2 și 3. Acest tip de valvă prezintă o înaltă reproductibilitate a volumelor injectate, rapiditate, un domeniu larg al volumelor ce pot fi injectate și o operare manuală foarte simplă (se poate de asemenea automatiza ușor).

În fig. 4.23 se prezintă o variantă constructivă a unei valve de injectare cu patru căi.

Această valvă de injectare are avantajul că bucla de injectare plasată extern, L_1 , se poate schimba foarte ușor, ceea ce permite o modificare a volumului probei injectate prin schimbarea lungimii acesteia.

Valvă de injectare rotativă

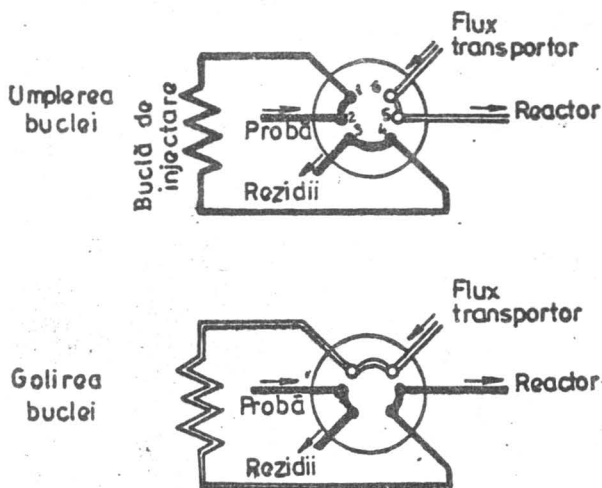


Fig. 4.22. Schema de operare a unei valve de injectare rotative cu patru căi.

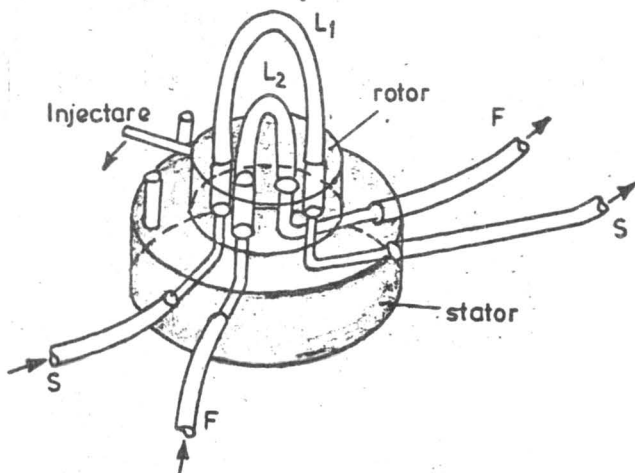


Fig. 4.23. Valvă de injectare rotativă cu patru căi. Rotorul este prevăzut cu două bucle, L_1 și L_2 . L_1 conține proba ce urmează a fi injectată, iar L_2 asigură circulația fluxului transportor, în timp ce are loc umplerea buclei L_1 cu probă. S, probă, F, flux.

cla 309/1992

Rev. 8

O altă variantă constructivă a unei astfel de valve constă din doi statori între care este prins ca într-un sandwich rotorul ce este prevăzut cu o buclă externă.

Valvele de injectare rotative de tipul celei prezentate în fig. 4.23. dar cu șase căi, deci șase orificii pe stator la care corespund șase orificii pe rotor, prezintă un interes deosebit, deoarece acestea pot fi utilizate într-o diversitate de configurații de lucru [4] dintre care vom prezenta câteva.

De exemplu, se poate realiza montajul prezentat schematic în fig. 4.22 prin conectarea canalelor alăturate de pe rotor, două câte două. Pentru injectarea simultană a probei și reactivului (conținuți în două bucle distincte) în două fluxuri purtătoare se poate folosi montajul prezentat în fig. 4.24.

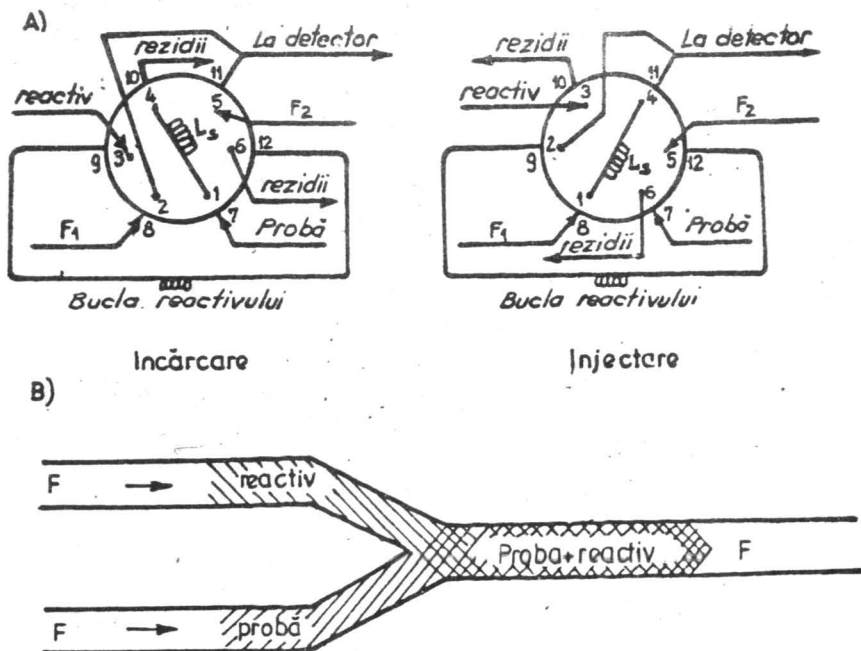


fig. 4.24. A) Configurația valvei cu șase căi pentru măsurarea unor volume de probă (I_S) și respectiv reactiv și injectarea lor în două fluxuri purtătoare F_1 și F_2 care apoi se întâlnesc.

B) Întâlnirea celor două zone poate avea loc sincron sau asincron și aceasta în funcție de lungimile drumurilor străbătute de cele două zone înainte de punctul de întâlnire.

Cu ajutorul acestui montaj al valvei de injectare se poate realiza tehnica de analiză bazată pe principiul zonelor care se întâlnesc.

O altă configurație este prezentată în fig. 4.25, care permite o dublă injectare a probei separată de o zonă de reactiv.

Deoarece înălțimea picului este o funcție cunoscută a volumului de probă injectate se pot obține două puncte pe o curbă de calibrare prin injectarea a două volume diferite ale unei aceleiași soluții standard.

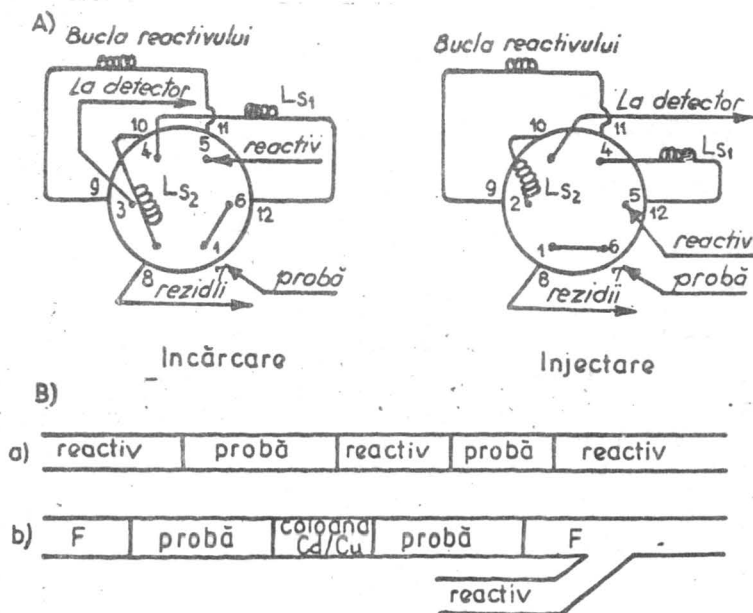


Fig. 4.25. A) Configurația valvei de injectare cu 6 căi pentru injectarea dublă a probei. În B) a) sînt injectate două zone din aceeași soluție a probei,

dar avînd volume diferite, L_{S1} și L_{S2} și care sînt separate de o zonă de reactiv; b) sînt injectate două zone ale probei, una dintre ele va trece printr-un reaktor cu umplutură în vederea efectuării unei pretrătări, F, flux transportor.

Utilizînd montajul din fig. 4.25, se poate mări mult și domeniul dinamic al sistemului de analiză, făcînd calibrări pentru concentrații mari, prin injectarea unor volume mici și calibrări pentru concentrații mici prin injectarea unor volume mari.

Un alt tip de aplicație al acestei valve ce permite injectarea a cîte două volume din proba de analizat constă în folosirea unor reactori cu umplutură, plasați în bucla reactivului. O astfel de configurație este utilă la determinarea nitratului și nitritului. La injectare, prima probă trece direct în bucla de reacție în care nitritul este determinat. A doua probă trece mai întîi prin coloana de reducere cu Cd/Cu în care are loc convertirea NO_3^- la NO_2^- , putîndu-se astfel determina nitratul total plus nitritul.

Este important de reținut că pentru realizarea oricăreia din configurațiile prezentate sînt necesare numai două pompe peristaltice (fiecare cu mai multe tuburi); una din pompe trebuie să fie continuu în funcțiune, iar cealaltă este necesar să funcționeze numai în perioadele cînd are loc umplerea buclelor cu probă și reactivi, putîndu-se astfel realiza o economie substanțială din aceștia.

Bucle de injectare despicate și cuibărite

Bucla externă a unei valve în care se introduce proba în vederea injectării poate fi despicăată sau cuibărită, aceasta cu scopul de a îndeplini funcții mai complexe, pe lîngă funcția simplă de a fi o cavităate ce conține un anumit volum din proba de analizat.

Astfel, pentru a se injecta reactivul și proba simultan în același flux transportor, se poate proceda în două moduri: 1) Prin plasarea unei a doua bucle cu ajutorul unei a doua valve în prima buclă, după cum se vede din fig. 4.26.a., sau prin despicarea buclei probei, după cum se vede din fig. 4.26.b.

Cuibăritrea reactivului în bucla probei a fost descrisă de Dasgupta și Hwang [5] și Rios și al. [6, 7], și a fost folosită în analizoarele prin injectare în flux Hitachi. Această tehnică permite obținerea unei secvențe probă-reactiv-probă, avînd avantajul unei mari precizii a volumelor de reactiv și probă injectată.

și prezentînd de asemenea o reproductibilitate înaltă a penetrării zonelor. Aceasta deoarece cele trei zone sînt propulsate de același tub al pompei peristaltice. Montajul ce utilizează o buclă despicată prezentat în fig. 4.26.b. permite de asemenea efectuarea unor determinări bazate pe penetrarea zonelor probei și reactivului. Secvența rezultată este însă diferită, fie probă-reactiv, fie probă-(probă+reactiv). În poziția de umplere cele două secțiuni ale buclei despicate sînt umplute cu probă și reactiv prin aspirare, folosind ieșirea comună notată cu W. La rotirea valvei, cele două zone sînt antrenate în instalație penetrînd gradat una în alta.

Reactorii cu umplutură cuibăriți în bucla de injectare (fig. 4.26.c) au destinația tratării probei înainte de injectare. Umplutura poate fi constituită din oxidanți sau reducători solizi, schimbători de ioni, enzime imobilizate etc.

În bucla de injectare pot fi plasate unități de separare prin dializă, filtrare, difuzie gazoasă, extracție cu solvenți (fig. 4.26.d). Cu ajutorul acestora se pot efectua separări și preconcentrări ale unor specii care trec dintr-un flux donor într-un flux acceptor, menținut staționar în bucla de injectare.

Detectorii cuibăriți în bucla de injectare (fig. 4.26.e) își găsesc aplicații, atunci cînd este necesară măsurarea unor proprietăți caracteristice a probei înainte ca aceasta să fie supusă unor tratamente ulterioare în FIA.

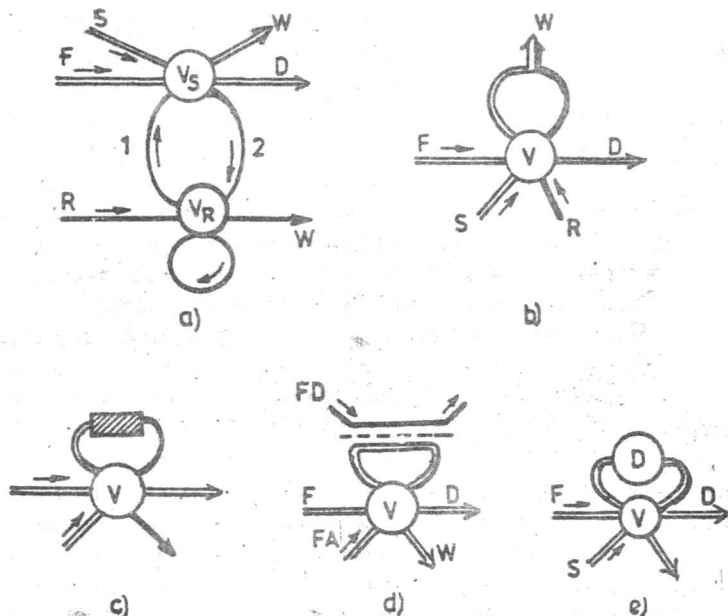


Fig. 4.26. Moduri de mărire a performanțelor injectării probei în FIA. a) injectare cu buclă cuibărită; se întrebuințează o a doua valvă pentru a introduce o zonă a reactivului între două zone ale probei 1 și 2. S este proba, F , fluxul transportor, V_S , valva pentru probă, V_R , valva pentru reactiv, D , detectorul, W , rezidii. b) injectare cu buclă despicată, bucla valvei este împărțită în două secțiuni: una pentru probă, iar cealaltă pentru reactiv, la injectare cele două zone vor penetra gradat una în alta. c) bucla valvei de injectare constituie partea acceptoare a unui sistem de separare (dializă, extracție cu solvenți etc.). FD , flux donor, FA , flux acceptor. e) bucla de injectare conține un detector, D , care măsoară o anumită proprietate a probei înainte de injectare.

4.4.2.1.3. Sisteme de injectare hidrodynamică

Acest sistem de injectare a fost propus de Ruzicka și Hansen [8] iar principiul său de funcționare este ilustrat în fig. 4.27..

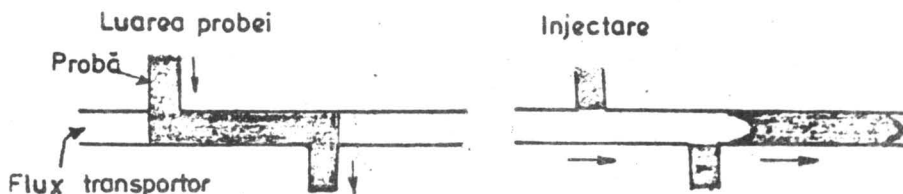


Fig. 4.27. Principiul injectării hidro dinamice.

Injectarea hidrodynamică necesită utilizarea a două pompe peristaltice. Cu una se obține fluxul transportor, iar cu cealaltă un flux de probă. Cele două pompe funcționează în nici un moment simultan. Pentru luarea probei, pompa ce propulsează fluxul transportor este oprită, iar cealaltă pompă este în funcțiune, asigurând umplerea cu soluția probei a porțiunii de tub cuprinsă între cele două ramificații ale sale (fig. 4.27). Pentru injectare, se oprește pompa ce transportă reactivul și se pornește pompa ce propulsează fluxul transportor.

Reproductibilitatea determinărilor utilizând injectarea hidrodynamică este bună, iar contaminarea ce apare la zonele de contact dintre probă și fluxul transportor este redusă.

Injectarea hidrodynamică are marele avantaj că operația de injectare se face fără a utiliza un dispozitiv cu părți componente în mișcare (cum este în cazul valvelor) și care datorită uzurii sau execuției necorespunzătoare poate avea pierderi de lichid. Prezintă dezavantajul că necesită utilizarea a două pompe peristaltice.

4.4.2.2. Sisteme de injectare bazate pe timp

În cazul sistemelor de injectare bazate pe timp, volumul probei este funcție de timpul în care are loc injectarea probei sub forma unui flux cu debit constant.

Volumul probei injectate poate fi modificat ușor în limite largi prin modificarea timpului de injectare.

Un sistem de injectare în funcție de timp este cel propus de Riley [9], care denumește metoda "analiză în flux cu dispersie

controlată". Principiul acestei metode de injectare este prezentat în fig. 4.28.

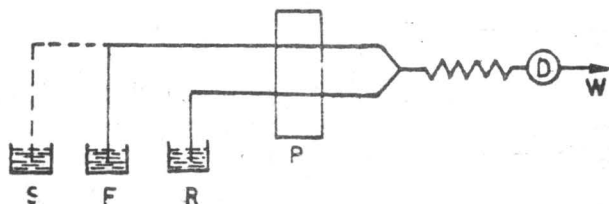


Fig. 4.28. Principiul injectării în funcție de timp propus de Riley [9]. P, pompă peristaltică, S, vas cu probă de analizat, F, vas cu lichidul transportor, R, vas cu reactiv. Explicații în text.

Unul din cele două tuburi de aspirare al pompei peristaltice se introduce în vasul cu reactiv, iar celălalt poate fi introdus, atât în vasul ce conține proba de analizat, cât și în cel ce conține fluxul transportor. Inițial, acest tub se introduce în vasul cu lichidul transportor. Prin pornirea pompei peristaltice se realizează în montajul FIA cele două fluxuri de reactiv și de lichid transportor. În vederea injectării se oprește pompa peristaltică, se introduce tubul de aspirare în vasul cu proba de analizat și se pornește din nou pompa peristaltică, o anumită perioadă de timp bine controlată. Apoi se oprește și se introduce tubul de aspirare în vasul cu lichidul transportor. Pornind pompa peristaltică, proba astfel injectată este transportată prin montajul FIA spre sistemul de detecție.

Modul de operare descris mai sus a fost complet automatizat. Dezavantajul acestei metode este că zona probei este aspirată prin pompa peristaltică, ceea ce face ca dispersia probei să fie mai greu controlabilă.

În fig. 4.29. se prezintă un sistem de injectare în funcție de timp, ce constă din două pompe, 1 și 2, ce au debite diferite, $x > y$.

Înainte de injectare (fig. 4.29.a), pompa 1 propulsează fluxul transportor spre punctul de confluență notat cu x, cu un debit mai mare decât pompa 2, care aspiră o parte din acest flux, restul trecând în tubul L, și apoi la rezidii.

În etapa a II-a (b) de aspirare, pompa 1 este oprită, iar tubul L este introdus în vasul cu proba de analizat, S. În etapa de injectare a probei, c), pompa 2 este în funcțiune, pompa 1 este repusă în funcțiune și tubul L este îndepărtat din vasul S. În aceste condiții, excesul de probă aflat în tubul L este îndepărtat de lichidul transportor.

Volumul probei astfel injectate va depinde de debitul de aspirare al pompei 2, precum și de intervalul de timp în care pompa 1 este oprită.

S-au propus și alte sisteme de injectare în funcție de timp, în diferite variante, pe care însă nu le vom discuta.

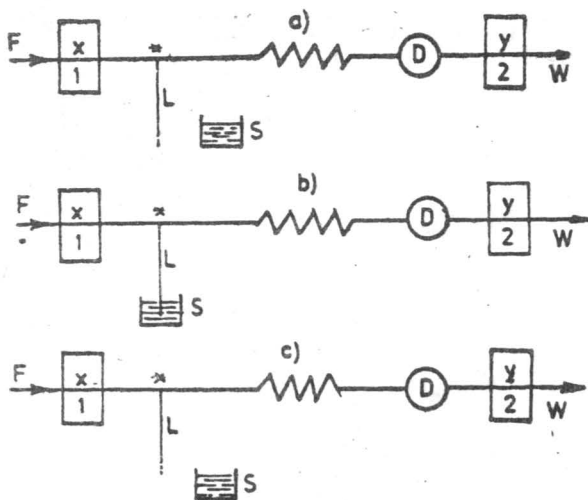


Fig. 4.29. Sistem de injectare în funcție de timp, cu două pompe. F, flux transportor, S, proba de analizat, x, debitul pompei 1, y, debitul pompei 2, x>y.
a) înainte de injectare, b) aspirarea probei,
c) injectarea probei.

4.4.3. Sistemul de transport și de reacție, conectori, reactori și alte componente

Componentele sistemului de transport și de reacție au rolul de a asigura trecerea fluxului de lichid prin montajul FIA și de a conecta diferitele părți ale acestuia. În timpul transportului, zona injectată se dispersează în fluxul transportor și vor putea avea loc reacții chimice între componenții probei și reactivul din fluxul transportor.

Sistemul de transport și de reacție este constituit de obicei din tuburi cu diametru interior mic, cuprins între 0,1-2 mm. Cele mai utilizate tuburi au diametrul interior de 0,5 mm. Materialul din care este fabricat tubul trebuie să aibă o bună rezistență mecanică, să fie cât mai inert din punct de vedere chimic și să nu se deformeze în domeniul de temperatură la care se lucrează.

Cele mai utilizate sînt tuburile fabricate din teflon, polietilenă și polipropilenă. Acestea însă au dezavantajul că sînt permeabile la oxigen, lucru care trebuie luat în considerare atunci cînd se întrebuintează soluții puternic reducătoare, sau atunci cînd pot avea loc reacții catalizate de aer, [10].

Lungimea tuburilor folosite este cuprinsă între cîțiva centimetri pînă la cîțiva zeci de metri, în funcție de tipul determinării.

Tuburile utilizate în montajele FIA, atunci cînd sînt suficient de lungi, sînt spiralate, împletite sau înnodate. Aceasta nu numai pentru a face economie de spațiu, cît și pentru a micșora dispersia probei injectate.

Reactorii cu umplutură sînt construiți din tuburi cu dimensiuni adecvate în care se introduce un material solid. Materialul ce constituie umplutura trebuie să nu fie compresibil, să nu se umfle la utilizare și trebuie să aibă particule cu dimensiuni destul de mari pentru a permite trecerea fără dificultăți a lichidului. Foarte indicate în acest scop sînt particulele de silicagel cu diametrul de 150 μm , deoarece acestea pot fi acoperite foarte ușor cu o serie de materiale active.

Este foarte important ca reactorii și sistemele de conectare a tuburilor să fie bine fixate pe un suport, astfel ca geometria fluxului de lichid să rămînă neschimbată pentru un set de determinări.

Conectorii folosiți în FIA permit cuplarea tuburilor prin presare, prin folosirea unui dispozitiv cu filet sau prin lipirea acestora. Conectorii prin presare sînt cel mai ușor de realizat

și dau rezultate foarte bune. Conectorii bazați pe folosirea unui dispozitiv cu filet sînt ușor de montat și demontat, însă sînt destul de scumpi. În prezent se livrează comercial o mare varietate de conectori: dubli, tripli, cvadrupli, în diferite configurații geometrice. În fig. 4.30 se prezintă cîteva din configurațiile geometrice ale unui conector triplu, iar în fig. 4.31 un tip de Chemifold.

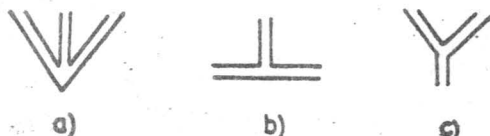


Fig. 4.30. Conectori tripli utilizați în FIA. a) în formă de V, b) în formă de T, c) în formă de Y.

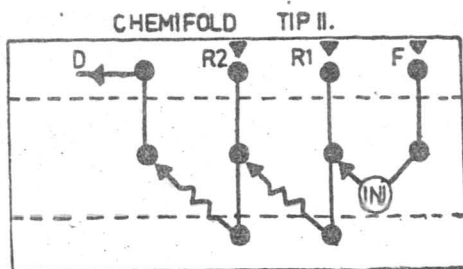
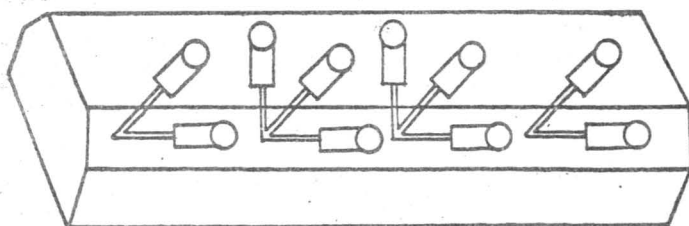


Fig. 4.31. Chemifold tip II adecvat pentru o metodă ce necesită folosirea a doi reactivi.

S-a demonstrat că cea mai indicată este configurația în formă de V, fluxurile ce intră în conector venind pe laturile V-ului iar fluxul rezultat ieșind din conector pe tubul central [11].

Firma Tecator, Suedia, fabrică așa numitele "Chemifold", care sînt de mai multe tipuri (fig. 4.31); acestea constau dintr-un bloc de plexiglas care conține mai multe conectoare duble sau triple și în care se pot fixa cu ajutorul unui filet tuburile necesare realizării unui anumit montaj FIA.

Folosirea unui Chemifold ușurează foarte mult realizarea unui montaj FIA, permițînd totodată menținerea practic constantă a geometriei acestuia.

În anul 1984, Ruzicka și Hansen [12] au propus sistemul de "microconduțe integrate"; s-a reușit astfel integrarea într-o singură unitate rigidă a sistemului de injectare, a reactorilor, a conectorilor și a detectorului. Tuburile în care are loc dispersia probei s-au realizat prin gravare pe un bloc de pvc transparent, de dimensiuni mici (70 x 45 x 10 mm) care a fost apoi acoperit cu o altă placă sau un film de material plastic. În fig. 4.32 se prezintă un asemenea montaj cu "microconduțe integrate" utilizat în FIA.

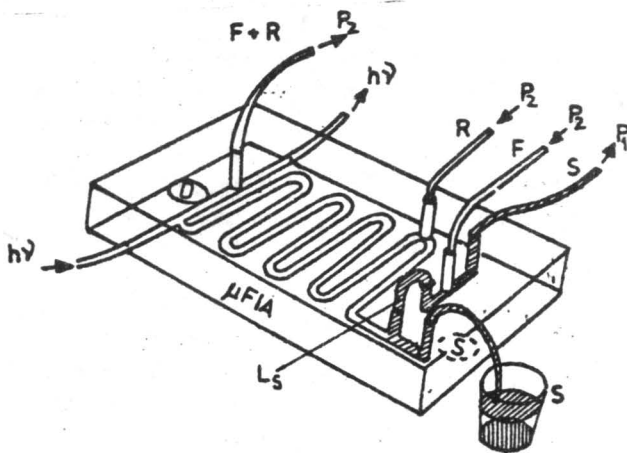


Fig. 4.32. Microconduțe integrate utilizate în FIA. Proba, S, este aspirată prin tubul ce duce la pompa P₁ în bucla de injectare L_S. În acest timp, prin tuburile

ce duc la pompa P_2 nu circulă lichid. Apoi se oprește pompa P_1 și se pornește pompa P_2 , care antrenează zona probei spre punctul de confluență cu soluția reactivului și în continuare spre celula în flux, notată cu D. Radiația luminoasă este ghidată de la sursă la celula în flux, iar apoi la detector cu ajutorul unui fascicul de fibre optice.

Utilizarea microconductelor integrate prezintă o serie de avantaje. Astfel, sistemul este de dimensiuni mici, compact, poate fi ușor conectat la diferite sisteme FIA. Are dezavantajul că pentru fiecare tip de determinare este necesar un alt bloc cu microconducte integrate.

Camerele de amestecare se utilizează atunci când este necesară o amestecare foarte bună a probei de analizat cu reactivul, de exemplu la utilizarea detectorilor electrochimici, sau atunci când este o mare diferență dintre vâscozitatea, densitatea, temperatura etc., fluxului purtător și a probei [13]

Camerele de amestecare se utilizează și pentru efectuarea titrărilor FIA sau pentru a realiza diluarea probelor de analizat.

O cameră de amestecare activă constă dintr-un tub de intrare, o cavitate cilindrică în care se poate introduce un mic magnet, ce poate fi pus în mișcare de un agitator și un tub de ieșire. O cameră de amestecare pasivă se deosebește de una activă prin faptul că îi lipsesc părțile în mișcare. Volumul cavității este factorul esențial care influențează gradul de diluare al probei și dispersia sa în direcția axială. La utilizarea unei camere de amestecare în vederea diluării probei este indicat de a o cupla cu tehnica de prelevare a probei din zona dispersată, folosind în acest scop un injector cu două canale.

4.4.3.1. Componente pentru separări prin difuzie gazoasă

O celulă pentru difuzie gazoasă utilizată în FIA are rolul de a transfera un compus gazos într-un flux în alt flux. Cele două fluxuri sînt separate de o membrană permeabilă pentru gaze.

În fig. 4.33 se prezintă schema unei celule pentru separări prin difuzie gazoasă.

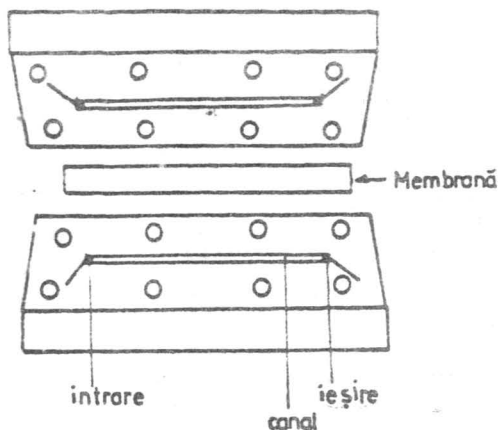


Fig.4.33. Schema unei celule pentru separări prin difuzie gazoasă.

Compusul gazos este, fie prezent în proba de analizat, fie se formează în urma unei reacții chimice. Membrana este în special din politetrafluoretilenă. Grosimea membranelor utilizate este mică, în general de 0,5 mm.

4.4.3.2. Componente pentru separări prin dializă

Dializa constituie o etapă importantă în pretratarea probelor ce permite îndepărtarea din proba de analizat a particulelor și a moleculelor de dimensiuni mari. Proba este injectată într-un flux transportor (flux donor) ce circulă de o parte a unei membrane de dializă. De cealaltă parte a membranei circulă un flux acceptor care preia constituenții probei ce au traversat membrana. Membrana este plasată într-o celulă al cărei principiu de funcționare este asemănător cu cel al celulei pentru separări prin difuzie gazoasă. Membranele folosite pentru dializă nu au aceeași capacitate de etanșare ca membranele de teflon (folosite pentru separări prin difuzie gazoasă) putând să apară pierderi de lichid. Din acest motiv, în cazul celulelor de dializă, fluxul donor și cel acceptor circulă prin canale făcute în două plăci de cauciuc între care se prinde membrana de dializă asigurându-se astfel etanșarea celulei (fig. 4.34).

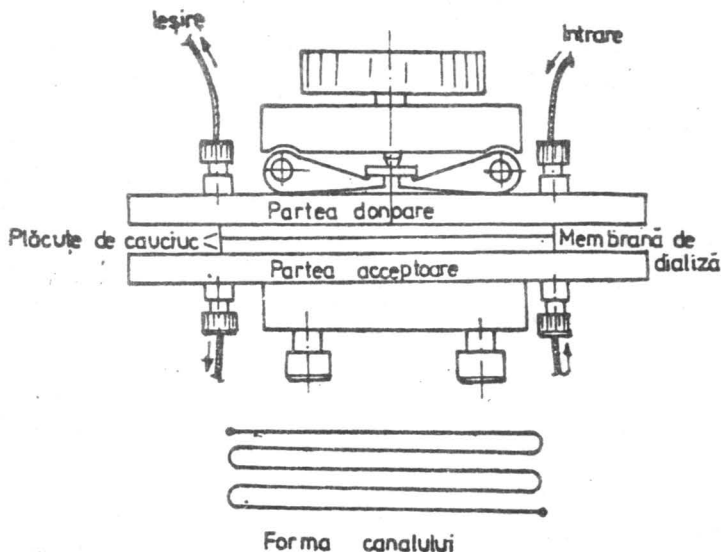


Fig. 4.34. Schema unei celule pentru dializă.

La efectuarea unor astfel de separări, numai o parte din substanța de analizat pătrunde prin membrana de dializă și ajunge în fluxul acceptor, avînd loc o diluare accentuată a probei.

4.4.3.3. Componente pentru separări prin extracție lichid-lichid

În procesul de extracție lichid-lichid, constituenții probei ce urmează a fi determinați sînt transferați din matricea lor originală într-o matrice nouă, total diferită. Pentru a efectua astfel de separări este necesar de a construi un dispozitiv capabil de a pune în contact și a amesteca două lichide nemiscibile, iar apoi de a le separa, aceste operații, avînd loc într-un mod reproductibil. Proba este injectată într-un flux transportor constituit dintr-o fază apoasă, în care se introduce apoi solventul organic sub forma unor segmente de lichid, la intervale regulate de timp. Extracția are loc prin deplasare acestui flux segmentat printr-un tub spiralat

de teflon. După separarea fazelor, o fracțiune din faza organică este trimisă spre celula în flux a unui spectrofotometru.

Sînt mai multe probleme importante care trebuie rezolvate pentru a efectua cu succes astfel de separări, și anume: pomparea solventului organic, segmentarea cu solvent organic a fluxului apos și separarea celor două faze nemiscibile.

Pomparea solventului organic se face cu rezultatele cele mai bune prin metoda deplasării, canalul pompei peristaltice pompînd de fapt apă într-un vas de sticlă în care se găsește solventul organic și care, la rîndul lui, este trimis în dispozitivul FIA. Se preferă acest mod de separare, deși se fabrică tuburi pentru pompe peristaltice rezistente la solvenți organici, însă acestea sînt mult mai scumpe decît tuburile obișnuite, iar durata lor de viață este scurtă.

Pentru a realiza introducerea solventului organic într-un mod reproductibil în fluxul apos se folosește un segmentor [14] a cărui schemă este prezentată în fig. 4.35.a.

Un bûn segmentor trebuie să permită obținerea unor segmente egale de fază organică, separate de segmente egale de fază apoasă, iar mărimea acestora să poată fi modificată în mod controlat.

Cel mai utilizat material folosit la fabricarea tuburilor în care are loc propriu-zis extracția este teflonul. Se utilizează tuburi cu un diametru de 0,5-0,8 mm. După extracție, separarea fazelor se face folosind un dispozitiv ca cel prezentat în fig. 4.35.b.

Un tip de separator al fazelor foarte bun este cel prezentat în fig. 4.36, care se bazează pe utilizarea unei membrane poroase de teflon [15].

Cele mai importante caracteristici ale unui dispozitiv de separare prin extracție cu solvenți utilizat în FIA sînt eficiența de separare și influența sa asupra dispersiei probei. Eficiența de separare trebuie să tindă spre 100%, dar în plus, este la fel de important ca nici o urmă din faza din care se face extracția să nu impurifice cealaltă fază, deoarece acest lucru poate determina mari erori la detecție.

În cazul unor probe concentrate se poate face o extracție lichid-lichid fără segmentarea fluxului apos cu faza organică [16]. Cele două faze, apoasă și organică, constituie două fluxuri de o parte și de alta a unei membrane poroase, componentul de separat difuzînd prin membrană. Acest mod de lucru este mai simplu, dar randamentul de extracție scade apreciabil.

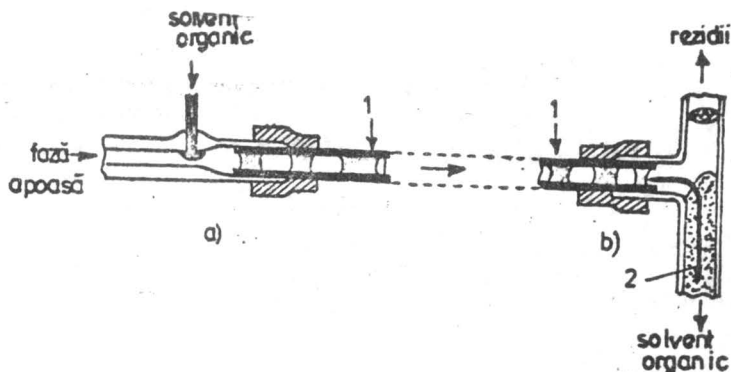


Fig. 4.35. Unitate de segmentare și separare utilizată în extracția cu solvenți. a) segmentor; distanța dintre capătul tubului 1 și a orificiului capilarei prin care intră solvențul organic determină mărimea segmentelor de fază apoasă și organică. b) separator simplu în formă de T în care se introduce un fir de teflon, 2, pentru a ușura separarea fazelor.

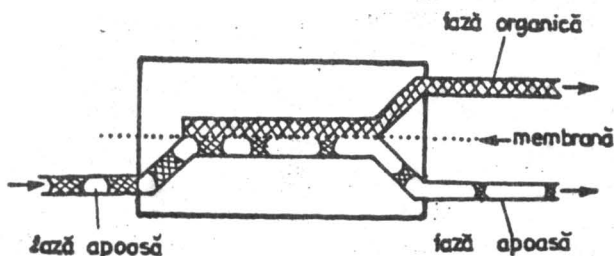


Fig. 4.36. Separator cu membrană microporoasă pentru extracție lichid-lichid.

Alte componente ale unui sistem FIA

Este evident că și alte componente în afara celor descrise în acest capitol pot fi utilizate la construcția unui sistem FIA.

Astfel, aproape toți producătorii de aparatură FIA oferă și un dispozitiv automat de introducere a probei folosind un schimbător

cda 309/1392 fasc. 9

automat de probe, care este de tipul celui obișnuit. Schimbătoarele automate de probă realizate mai recent pot fi programate să preleveze probele în orice ordine, ori de câte ori dorim.

Pompele și valvele de injectare utilizate în FIA sînt uneori livrate cu o interfață RS-232, care permite controlul lor de la distanță cu ajutorul unui calculator. Acest lucru poate fi foarte util atunci cînd sînt necesare cicluri complicate de oprire-pornire a pompei sau de umplere-golire a valvei de injectare.

În aparatele FIA comerciale, pompele și sistemele de injectare sînt acționate de obicei de un microprocesor aflat în unitatea principală și care permite programarea adecvată a diferitelor etape ale ciclului analitic. Alte componente obișnuite ale unui dispozitiv FIA sînt filtrele "in line" pentru tratarea probelor înainte de a fi analizate.

Controlul temperaturii se realizează prin introducerea întregului dispozitiv FIA într-o încălțată termostată. Scopul este de a menține o temperatură constantă, de obicei puțin peste temperatura camerei.

4.4.4. Detectori folosiți în FIA

Pentru ca un detector să poată fi utilizat cu rezultate bune în FIA este necesar să îndeplinească o serie de condiții, dintre care menționăm: să aibă volumul mic, să prezinte un răspuns liniar și rapid, pe un domeniu larg de concentrații, să aibă sensibilitate înaltă și un zgomot de fond redus.

Este de asemenea de dorit ca lățimea picului, determinată de detector, exprimată sub formă de varianță, $\sigma_{\text{detector}}^2$, să nu fie mai mare de 5% din lățimea totală a picului. Contribuția detectorului la lățimea picului poate fi exprimată ca deviația standard, σ_t (în unități de timp) a semnalului obținut ca răspuns la o injecție ce durează un timp infinit mic. Valoarea σ_t a sistemului de detecție determină numărul maxim de probe ce pot fi analizate în unitatea de timp [17] de către un sistem FIA.

Se poate face o paralelă între detectorii utilizați în FIA și în HPLC. Aparent, un detector utilizat într-un sistem FIA trebuie să aibă aceleași calități ca și un detector utilizat în HPLC. Aceasta nu este însă decît într-o oarecare măsură adevărat, deoarece și scopul celor două tehnici analitice este diferit. În HPLC se urmărește separarea componentelor unei probe urmată de determinarea lor individuală, deci detectorul utilizat trebuie să aibă un răspuns

cît mai puțin selectiv, pentru ca fiecare, sau cît mai mulți din componenții probei să poată fi puși în evidență.

În FIA se urmărește efectuarea unor tratamente chimice (sau fizice) de obicei asupra unui singur constituent al probei, care trebuie determinat cu o selectivitate cît mai înaltă. Astfel, luînd ca exemplu detectorul conductometric, acesta este foarte indicat în cazul cromatografiei ionice, în timp ce la aplicarea sa în FIA utilitatea sa este limitată, deoarece răspunsul său este neselectiv. Pe de altă parte, electrozii ion selectivi au fost aplicați cu succes în FIA, pentru determinarea selectivă a anumitor cationi în amestec, dar practic nu își găsesc aplicații în cromatografie. O excepție o constituie situația în care un detector neselectiv este cuplat cu o reacție chimică foarte selectivă. Astfel, chemiluminiscența ce apare în urma reacției neselective dintre luminol și H_2O_2 poate fi cuplată cu producerea foarte selectivă de H_2O_2 prin acțiunea unor oxidaze asupra unor substraturi de analizat.

În HPLC este foarte important de a avea celule în flux foarte bine proiectate, în care componenții separați își păstrează individualitatea, neavînd loc o lățire a picurilor ce corespund acestora. Din acest motiv se folosesc celule cu volumul de ordinul 18-75 μL , iar în cazul aparatelor HPLC mai moderne, aceste celule au volumul de 6 μL , sau chiar mai mic.

În HPLC este necesar ca lățimea picurilor să fie cît mai mică pentru a crește rezoluția separărilor. În FIA este esențial ca lățimea benzii să fie reproductibilă, iar diluarea determinată de lățimea benzii va afecta numai limita de detecție.

În general se poate spune că cerințele care se impun pentru un detector utilizat în FIA sînt mai reduse, decît pentru un detector utilizat în HPLC. Din acest motiv, în cele mai multe cazuri în FIA se pot utiliza detectorii folosiți în HPLC. În plus, FIA permite utilizarea unor detectori care din punct de vedere practic nu pot fi folosiți în HPLC.

În principiu, orice detector prevăzut cu o celulă în flux poate fi interfațat cu un sistem FIA. Chiar și instrumente cum ar fi spectrometrele de masă, care nu sînt de obicei considerate instrumente în flux, au fost utilizate ca detectori în FIA.

Datorită caracteristicilor specifice ale FIA și anume, formarea unui gradient de concentrație al zonei dispersate, funcția detectorului trebuie considerată și dintr-un punct de vedere întrucîtva diferit, comparativ cu toate celelalte tipuri de determinări.

Astfel, detectorii pot fi de două categorii: detectori bazați pe măsurarea unor proprietăți legate de întreaga masă a soluției și detectori de suprafață, în care detecția se face pe baza măsurării unei proprietăți a soluției la interfața detector-soluție. Detectorii optici sînt reprezentanți tipici pentru prima categorie, iar detectorii electrochimici pentru cea de a doua categorie.

Pentru cei mai mulți detectori optici și detectori conductometrici, semnalul măsurat corespunde unei medii a compoziției porțiunii de flux ce se găsește în celula detectorului. Are loc o integrare a microstructurii stratificate a zonei probei care se găsește în celula detectorului.

În cazul metodelor electrochimice de analiză determinarea se bazează pe transportul unei specii electroactive spre suprafața detectorului. Dacă specia de analizat nu este transferată efectiv din masa soluției la stratul de difuzie iar apoi, prin acesta, la suprafața detectorului, ea nu va putea fi detectată. Din acest motiv, în FIA, unde zona probei este stratificată, speciile de analizat pot trece pe lângă detector fără a fi puse în evidență. Pentru a se evita astfel de situații, la utilizarea detectorilor electrochimici, fluxul ce transportă proba de analizat este împins sub forma unui jet pe suprafața sensibilă a detectorului.

4.4.4.1. Detectori optici

Acest tip de detectori este cel mai utilizat în FIA datorită numărului foarte mare de specii care pot fi determinate, fie ca atare, fie în urma transformării lor în urma unor reacții chimice, în compuși cu proprietăți optice. Dintre metodele cele mai utilizate, menționăm metodele spectrofotometrice și, mai nou, metodele fluorimetrice, și cele bazate pe chemiluminiscență, în special în chimia clinică. De asemenea, tehnicile bazate pe emisie sau absorbție atomică se folosesc tot mai mult ca sisteme de detecție în FIA [18].

Detectori spectrofotometrici. În fig. 4.37 se prezintă două tipuri de celule utilizate pentru determinări spectrofotometrice în FIA. După cum se vede din figura 4.37, direcția fasciculului de radiații este de-a lungul celulei, avînd loc de fapt o integrare a semnalului pentru fracțiunea din probă conținută în celulă.

S-au propus și celule în care direcția fasciculului de radiații este perpendiculară pe direcția de curgere. Acest tip de celule are volumul mult mai mic decît cele prezentate anterior și redau mai exact profilul zonei dispersate în FIA. Tipurile de celule descrise mai sus pot fi utilizate și pentru determinări turbidimetrice. În cazul dispozitivelor FIA cu microconducte [12] celula pentru deter-

minări spectrofotometrice nu mai este plasată în compartimentul celulelor dintr-un spectrofotometru, ci radiația luminoasă este ghidată cu ajutorul unui fascicul de fibre optice la celulă iar apoi, după absorbție, înapoi la sistemul de măsură.

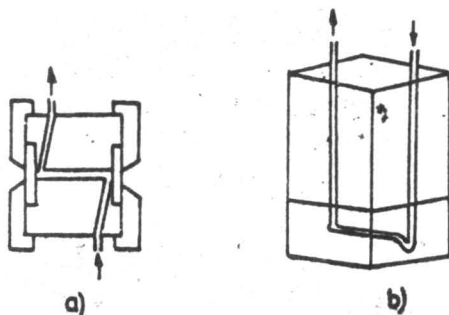


Fig.4.37. Tipuri de celule spectrofotometrice utilizate în FIA. a) configurație în formă de Z, b) configurație în formă de U.

Efectuarea determinărilor prin metoda FIA nu afectează nici una din caracteristicile de bază ale determinărilor spectrofotometrice obișnuite. Sensibilitatea determinărilor este aproximativ aceeași, dar crește mult numărul de analize ce pot fi efectuate în unitatea de timp. De asemenea, crește precizia determinărilor, deoarece sînt eliminate erorile ce pot proveni de la operatorul uman.

Un deosebit interes prezintă încorporarea în sistemele FIA a detectorilor ce utilizează rețele de diode. Aceștia pot spori apreciabil performanțele unui dispozitiv FIA, în special pentru analiza unor amestecuri multicomponente și pentru determinări cinetice.

Detectori bazați pe luminiscență

Tehnicile de detecție bazate pe luminiscență, fluorescență, fosforescență, chemiluminiscență, bioluminiscență, cunosc o utilizare largă în FIA. În cazul tuturor acestor metode aplicarea lor în FIA le mărește performanțele, cu precădere în cazul ultimelor două.

În cazul metodelor de analiză bazate pe chemiluminiscență și bioluminiscență, emisiile de radiație are loc de obicei într-un timp foarte scurt, de ordinul milisecundelor. Din acest motiv, este esențial ca măsurarea radiației emise să se facă cît mai repede

după amestecarea probei de analizat cu reactivii. Acest lucru este ușor de realizat cu un dispozitiv FIA pentru care măsurarea radiației emise se face chiar în punctul de amestecare. Se pot astfel utiliza reacții de chemiluminiscență sau bioluminiscență, care au loc într-un timp de ordinul milisecundelor, sau chiar mai scurt. Acestea nu pot fi folosite utilizând metode manuale de analiză și care rămân limitate la reacții ce decurg într-un timp suficient de lung.

În fig. 4.38 se prezintă un sistem de detecție bazat pe chemiluminiscență.

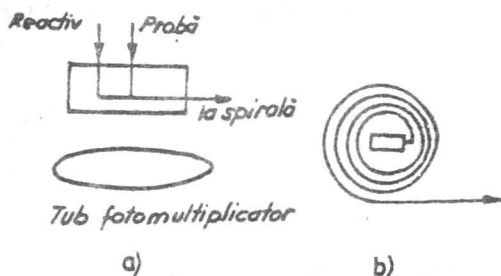


Fig. 4.38. Sistem de detecție bazat pe chemiluminiscență.
a) vedere laterală, b) vedere de sus.

Proba și reactivul sînt amestecați înainte de a intra într-o celulă în formă de spirală, care este plasată în fața unui tub fotomultiplicator. Dacă viteza reacției de chemiluminiscență este suficient de mare, emisia radiației încetează înainte ca amestecul de reacție să părăsească celula în spirală. Singurul neajuns al unei astfel de celule este faptul că picul FIA este integrat în funcție de timp.

Un avantaj major al metodelor de analiză bazate pe chemiluminiscență îl constituie faptul că prezintă un domeniu liniar de răspuns, ce se extinde pe mai multe decade de concentrație (în mod obișnuit de la trei la cinci decade).

Detectorii fluorimetrici cunosc o utilizare destul de largă în FIA, și aceasta datorită avantajelor pe care le prezintă metoda fluorimetrică. Ca dezavantaj putem menționa numărul destul de redus de compuși ce prezintă fluorescență. Celulele utilizate pentru

determinări fluorimetrice în FIA se deosebesc de cele utilizate pentru determinări spectrofotometrice în primul rând prin faptul că radiația de fluorescență se măsoară la un unghi (de obicei de 90°) față de radiația excitatoare. Aplicarea laserilor la sistemele fluorimetrice de detecție a dus la o mărire apreciabilă a performanțelor acestora [20-22], ajungându-se la limite de detecție de ordinul fracțiunilor de picogram în proba injectată.

Comparativ cu metodele fluorimetrice manuale, cuplarea acesteia cu FIA duce la o creștere apreciabilă a reproductibilității. determinărilor. Aceasta se explică prin faptul că FIA fiind un sistem închis, determină o stabilizare a condițiilor de lucru, iar metoda fluorimetrică, după cum se știe, este sensibilă chiar la variații mici ai unor parametri experimentali.

Detectori bazați pe utilizarea spectrometriei de emisie sau absorbție atomică

În principiu, orice spectrometru de absorbție atomică sau de emisie atomică poate fi cuplat cu un dispozitiv FIA de analiză. Comparativ cu alte metode de analiză debitele necesare acestor metode sînt mai mari (4-8 mL pentru absorbție atomică și 1-3 mL pentru spectrometria de emisie în plasmă cuplată inductiv).

Volumele probelor injectate sînt în domeniul 10-1000 μ L. Dacă determinările se fac pe baza măsurării înălțimii picurilor are loc o anumită micșorare a valorii semnalului, comparativ cu aspirarea continuă, datorită dispersiei probei în fluxul transportor. Din acest motiv, montajul FIA trebuie proiectat astfel încît proba să prezinte o dispersie cît mai mică în timpul transportului său spre detector.

Se poate spune că tehnica FIA îmbunătățește în general performanțele metodelor de analiză bazate pe emisie sau absorbție atomică, concluzie ce poate fi trasă pe baza unor articole de sinteză [18, 19, 23, 34, 35] apărute în literatură.

Dintre avantajele cuplării FIA cu spectrometria atomică menționăm:

a) Stabilizarea unor condiții de echilibru în pulverizator datorită alimentării continue cu fluxul de lichid a sistemului de pulverizare al aparatului. Fluxul de alimentare are un debit constant, chiar atunci cînd se injectează probe avînd vîscozități diferite.

b) Posibilitatea efectuării unor pretratări ale probelor înainte de a ajunge la detector. Astfel, probele pot fi diluate,

concentrate, pot fi tratate cu reactivi, se pot efectua separări (prin extracție cu solvenți, dializă etc.).

c) Nu sînt necesare unele pretratări ale probelor. De exemplu în cazul unui conținut mare în săruri al probelor nu este necesară diluarea acestora cu scopul de a evita înfundarea sistemului de pulverizare și al arzătorului.

d) Folosirea unor volume mici de probă, de obicei 10-200 μ L.

e) Numărul mare de analize ce pot fi efectuate în unitatea de timp.

f) Se poate realiza o creștere a sensibilității determinărilor, în modul cel mai simplu prin folosirea unui flux transportor constituit din anumiți solvenți organici, sau prin preconcentrarea speciei de analizat.

Cuplarea FIA cu spectrometria de absorbție atomică prezintă de asemenea avantajul unor posibilități mai simple comparativ cu metodele convenționale, de trasare a curbelor de calibrare [24] și de utilizare a metodei adițiilor standard [25].

4.4.4.2. Detectori electrochimici

Sensorii electrochimici sînt foarte utili în sisteme hidrodinamice datorită selectivității, sensibilității și răspunsului liniar pe un domeniu mare de concentrație. Acest tip de detectori răspunde însă numai la speciile care sînt prezente în vecinătatea imediată a suprafeței sensorului. Din acest motiv, aceste specii trebuie să fie reprezentative pentru fiecare porțiune a soluției analizate, care vine în contact cu suprafața sensorului. În plus, forma și caracteristicile hidrodinamice ale celulei detectorului au o mult mai mare importanță, decît în cazul detectorilor spectrofotometrici.

Detectorii electrochimici pot fi clasificați în funcție de tehnică utilizată în următoarele categorii principale: potențiometrice, amperometrice, voltametrice și coulometrice.

Detectorii conductometrici și capacitometrici considerăm că nu fac parte din cadrul detectorilor electrochimici (detecția nu se face pe baza unei reacții de electrod).

În funcție de caracteristicile geometrice ale sistemului folosit, detectorii electrochimici utilizați în FIA pot fi clasificați în (fig. 4.39):

- detectori încorporați în peretele tubului. Partea sensibilă a detectorului poate fi sub forma unui tub cu același diametru interior cu al tubului utilizat la transportul fluxului. De exemplu un electrod de sticlă al cărui bulb a fost înlocuit cu un capilar.

Tot în această categorie intră și detectorii pentru care partea sensibilă este constituită din una sau mai multe plăcuțe încorporate în peretele tubului.

- de tip cascadă. Fluxul este proiectat frontal sau tangențial pe suprafața activă. Dacă se folosește o curgere tangențială, pot fi utilizați mai mulți senzori plasați în serie.

- sub forma unei sîrme. Se folosește de obicei un electrod metalic plasat cu suprafața sa de-alungul axei fluxului.

Plasarea electrodului de referință și a contraelectrodului are mai puțină importanță asupra determinărilor. De cele mai multe ori aceștia sînt plasați după electrodul de lucru, fie chiar în fluxul de lichid, fie într-un rezervor în care se colectează fluxul ce transportă proba.

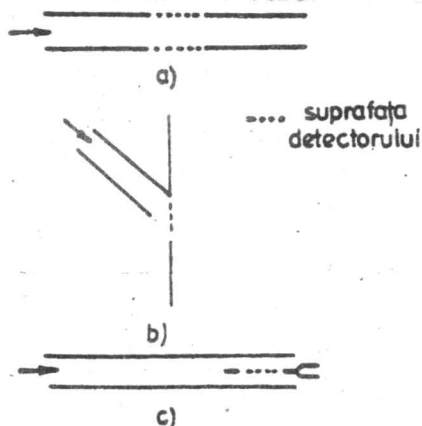


Fig. 4.39. Cele trei configurații principale ale detectorilor electrochimici. a) Detector încorporat în peretele tubului, b) de tip cascadă, c) sub formă unei sîrme

Detectorii potențiometrici prezintă o serie de avantaje, cum ar fi: simplitatea aparaturii necesare, răspuns rapid și selectiv. Ca un dezavantaj al acestor detectori trebuie menționat faptul că la schimbarea compoziției soluției este necesar un timp destul de lung pentru atingerea echilibrului între soluție și suprafața electrodului.

Electrodul de sticlă a fost folosit în FIA pentru determinarea pH-ului unor soluții, atât în forma sa obișnuită, într-un montaj de tip cascadă, cât și sub forma unui capilar prin care circulă fluxul transportor. Ruzicka și colab. [26.] au făcut un studiu

detaliat al comportării electrodului de sticlă capilar. Acest tip de electrod a fost de asemenea descris de Simpson și Holler [27] care au făcut un studiu comparativ al acestuia cu electrodul de stibiu.

Electrozii ionselectivi sînt utilizați pe scară mare drept detectori în FIA. Se poate folosi un montaj ca cel prezentat în fig. 4.40. Utilizarea unei serii de electrozi ionselectivi plasați într-un montaj în cascadă permite determinarea simultană a mai multor specii [28].

Van Staden a construit și testat numeroase tipuri de electrozi ionselectivi sub formă tubulară [29-31] care au dat rezultate bune în FIA.

Electrozii ionselectivi bazați pe folosirea tranzistorilor cu efect de cîmp, pot fi utilizați cu rezultate foarte bune drept detectori în FIA, avînd o serie de avantaje comparativ cu electrozii ionselectivi cu membrană.

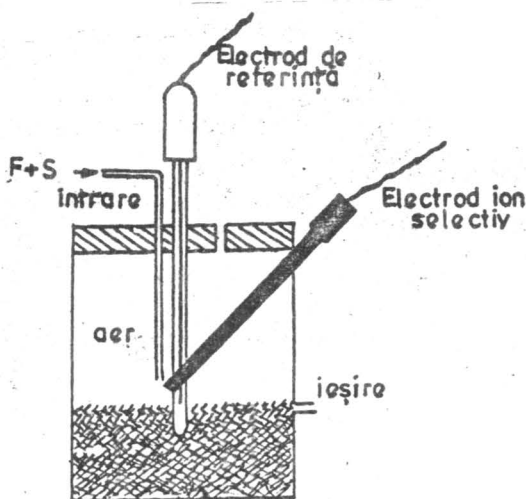


Fig.4.40 . Schema unui sistem de detecție bazat pe folosirea electrozilor ionselectivi. F+S reprezintă fluxul în care s-a injectat proba de analizat.

Astfel, aceștia pot fi mult mai ușor miniaturizați, sînt mai robuști, prezintă un raport semnal/zgomot de fond mai mare, răspunsul este mai rapid etc.

Detectori amperometrici. Drept electrozi de lucru pentru determinări amperometrice în FIA se folosesc în general electrodul picurător de mercur, electrozi de mercur staționari, electrozi solizi sau electrozi solizi (de aur) acoperiți cu un strat de mercur.

Electrodul picurător de mercur prezintă avantaje și dezavantaje bine cunoscute. Limita de detecție ce poate fi atinsă cu acest electrod este de ordinul 10^{-7} - 10^{-8} M.

Detectorii solizi (metalici sau de carbon) permit o detecție la concentrații mai mici de 10^{-10} M. Se utilizează pentru reacții anodice. La utilizarea acestor electrozi determinarea este efectuată într-un strat foarte subțire de lichid (10 - $100 \mu\text{m}$) ce curge pe suprafața electrodului solid. Prezintă ^{dez}avantajul îmbătrânirii suprafeței, sau al blocării acesteia în urma unor fenomene de adsorbție. Problema curățirii și reactivării electrozilor solizi s-a putut rezolva utilizând succesiuni de pulsuri electrice. Astfel, electrozii de carbon sticlos sînt reactivați aplicînd succesiuni de pulsuri de potențial, timp de 5 s, care refac răspunsul corect al electrodului după deactivarea determinată de compuși organici. Electrozii sub forma unei picături de mercur și electrozii solizi acoperiți cu un strat de mercur [13] au fost obținuți în variante miniaturizate și au putut fi utilizați cu succes, de exemplu pentru determinarea "in vivo" a neurotransmițătorilor în creier.

S-au propus o multitudine de tipuri de celule pentru determinări amperometrice în FIA. În fig. 4.41 se prezintă unul din aceste tipuri [22].

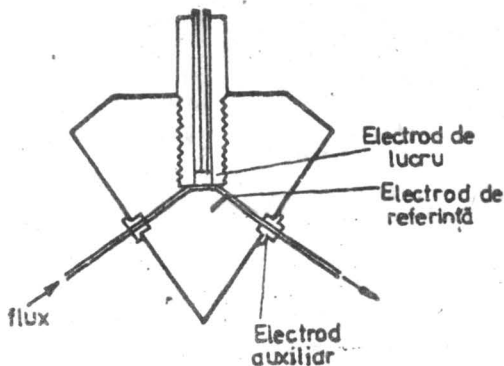


Fig. 4.41. Schema unei celule amperometrice ce utilizează electrozi solizi.

Alte tipuri de electrozi. În principiu, orice detector în care se poate încorpora o celulă în flux poate fi utilizat în FIA. Sînt de menționat detectorii în infraroșu cu transformată Fourier și cei bazați pe spectrometria de masă. Absorbția puternică pe care o prezintă apa în infraroșu a limitat utilizarea spectrometriei i.r. pentru determinarea unor compuși dizolvați în apă. Totuși, noile tipuri de celule propuse permit astfel de determinări.

În fig. 4.42 se prezintă schema unei celule pentru spectrometrie în i.r. cu transformată Fourier. Determinările de acest tip au aplicații în special în industria farmaceutică.

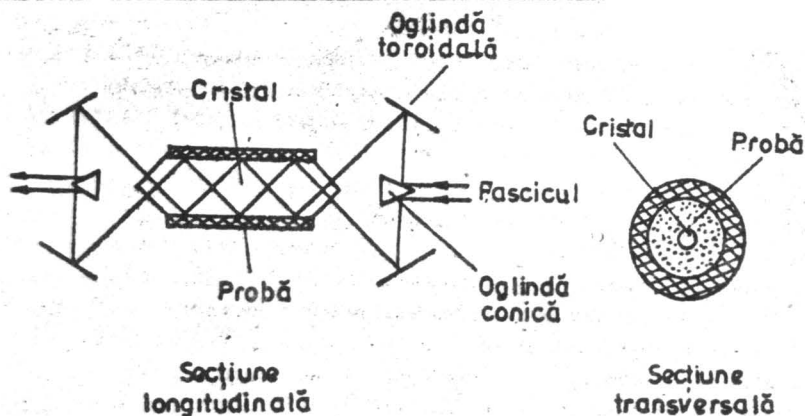


Fig. 4.42. Schema unei celule circulare utilizate în spectrometria în i.r. cu transformată Fourier.

O interesantă cuplare la FIA cu spectrometria Ramam constă în a realiza o acoperire reproductibilă a unor microsferă de sol de argint ^{cu substanța} de analizat [33]. În acest mod se realizează o creștere apreciabilă a limitei de detecție, deoarece substanța ce acoperă microsferă prezintă un efect Raman mărit. Dificultatea metodei constă în a realiza o acoperire reproductibilă cu un strat uniform din substanța de analizat a particulelor solului de argint, lucru ce devine posibil utilizînd tehnica FIA.

4.4.5. Analizoare FIA disponibile comercial

În cele ce urmează prezentăm cîteva din analizoarele FIA disponibile comercial. Acestea pot fi atît aparate de laborator, cît și analizoare de proces, cu o construcție mai robustă și care permit controlul automat al unor procese industriale.

Tecator FIAtar 5020 (Suedia)

Acest aparat este modular. Unitatea centrală este echipată cu două pompe peristaltice programabile independente. "Chemifold"-urile (fig.4.15) și valvele de injectare (cu unul sau două canale) sînt ușor de schimbat. Programarea pompelor și dispozitivului de injectare se face manual și cu ajutorul unui panou de comandă. Microprocesorul din unitatea centrală permite calcularea automată, calibrarea și recalibrarea, precum și prezentarea digitală a rezultatelor. Se poate adapta modul de lucru în flux stopat, sau cu pompare intermitentă. Sînt cinci posibilități de evaluare înălțimea picului, suprafața picului, lățimea picului, pic la pic (pentru determinări în flux stopat) și determinarea semnalului la un timp prestabilit după injectare.

Sistemul de detecție 5032 are o unitate optică separată care este plasată în interiorul unității centrale și o unitate de control a detectorului. Unitatea de detecție optică este fie un spectrofotometru cu două fascicule, fie un fotometru monofascicul cu filtru, ambele pentru domeniul vizibil. Detectorul este prevăzut și cu un printer-plotter cu patru culori care înregistrează spectrele de absorbție și datele analitice.

Schimbătorul automat de probe, acționat de unitatea centrală este de formă circulară și permite introducerea a 40 de probe.

Unitatea centrală acceptă orice semnal al detectorului în domeniul ± 1000 mV.

Sînt disponibile anexe pentru efectuarea de separări prin difuzie gazoasă, dializă, extracție cu solvenți. În unitatea centrală este inclusă o unitate de filtrare și de degazare.

Tecator Aquatec (Suedia)

Acest aparat a fost proiectat pentru determinarea ionilor de amoniu, azotit, azotat, fosfat și clorură din apă. Poate opera atât complet automat, cît și prin injectare manuală. Configurația de bază a Aquatec-ului cuprinde un "analizor" și un sistem de control. În analizor probele sînt amestecate cu reactivii în microconduțe făcute în plăci de cauciuc. Absorbanța este măsurată într-o unitate optică integrată. Aparatul are incorporat un microprocesor, care are rolul de a înregistra datele, de a le evalua și de a le comunica. În memorie pot fi păstrate un număr de 15 curbe de calibrare, ce pot aparține la diferite domenii de lucru sau metode de analiză.

FIAtron SHS-200 (S.U.A.)

Prezintă o mare varietate de module. Dispozitivul de injectare FIA-VALVE 2000 este o valvă rotativă cu 8 căi. Toate părțile acestei valve care vin în contact cu soluția sînt din teflon. Această valvă

de injectare are panou de comandă propriu pentru stabilirea diferitelor operații pe care le execută.

Modulele FIA-ZYME permit determinarea glucozei, fructozei, lactozei, amidonului și L-lactatului. Metodele de analiză se bazează pe folosirea enzimelor imobilizate și a senzorilor electrochimici. Toți parametrii de lucru sînt programați de la panoul din față al aparatului (sau de la distanță utilizînd o interfață RS-232).

Modulele FIA-TRODE au fost proiectate pentru determinări potențiometrice. Sînt disponibile module pentru determinarea pH-ului, determinări cu electrozi ionselectivi și determinări de substanțe gazoase (NO_2 , NH_3 , CO_2 etc.).

Modulul FIA-LITE este un detector calorimetric, iar FIA-DUCT un detector conductometric.

analizoarele de proces FIATron (S.U.A.)

Aceste analizoare sînt dedicate controlului automat al anumi-tor procese industriale. Astfel, pot fi utilizate în biotehnologie și industria farmaceutică (determinarea glucozei, L-lactatului, flufenazinei etc.), în industria alimentară (determinarea cifrei de iod, a acizilor grași liberi, a proteinelor) culoarea berii etc.), în industria chimică (determinarea acidității, alcalinității, amoniacului etc.), în protecția mediului ambiant (determinarea a nume-roși poluanți în ape).

În aceste tipuri de analizoare, fluxurile de lichid sînt puse în mișcare prin presiunea unui gaz. Detecția se poate face potențiometric, amperometric, conductometric, colorimetric, spectro-fotometric și fluorimetric.

În general, aceste analizoare permit efectuarea a 60 analize pe oră.

Lachat Quick-Chem System (S.U.A.)

Este un sistem modular ce are următoarele unități: un schim-bător automat de probe, o pompă peristaltică, o unitate centrală în care se găsesc modulele de reacție (tuburi în spirală, conectoare etc.), sistemul de detecție optic sau electrochimic, două valve de injectare, un sistem de control multicanal pentru unitatea optică de detecție, un înregistrator și un centru de date. Multe dintre module sînt opționale.

Sistemul permite efectuarea a pînă la patru analize simultan. Se poate efectua de asemenea pregătirea în mod automat a probelor pentru analiză, de exemplu prin diluție, concentrare, sau purificare.

B I B L I O G R A F I E

1. Jagner, D., Josefson, M. și Aren, K., Anal. Chim. Acta, 1982, 141, 147.
2. Alexander, P.W., Finlayson, R.J., Smithe, L.E. și Thalib, A., Analyst, 1982, 107, 1735.
3. Krug, F.J., Bergamin, H.F. și Zagatto, E.A.G., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 103.
4. Erickson, B.C., Ruzicka, J. și Kowalski, B., Anal. Chem., 1987, 59, 1246.
5. Dasgupta, P.K. și Hwang, H., Anal. Chem., 1985, 57, 1009.
6. Rios, A., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., Anal. Chem., 1986, 58, 663.
7. idem, Anal. Chim. Acta, 1986, 187, 139.
8. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1983, 145, 1.
9. Riley, C., Aslett, L.H., Rocks, B.F., Sherwood, R.A., Watson, J.D.M. și Morgan, J., Clin. Chem., 1983, 29, 332.
10. Lazaro, F., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., Analyst, 1984, 109, 333.
11. Clark, G.D., Hungerford, J.M. și Christian, G.D., Anal. Chem., 1989, 61, 973.
12. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1984, 161, 1.
13. Pungor, E., Fehér, Z., Nagy, G., Toth, K., Horvai, G. și Gratzl, M., Anal. Chim. Acta, 1979, 109, 1.
14. Karlberg, B. și Thelander, I., Anal. Chim. Acta, 1978, 98, 1.
15. Karlberg, B., Nord, L., Anal. Chim. Acta, 1980, 118, 285.
16. Sahlestrom, Y. și Karlberg, B., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 315.
17. Poppe, H., Anal. Chem., 1983, 145, 17.
18. Tyson, J.F., Anal. Proc., 1983, 20, 488.
19. Tyson, J.F., Anal. Chim. Acta, 1988, 214, 57.
20. Kelly, T.A. și Christian, G.D., Anal. Chem., 1981, 53, 2110.
21. Harris, J.M., Anal. Chem., 1982, 54, 2337.
22. Kelly, T.A. și Christian, G.D., Talanta, 1982, 29, 1109.
23. Gallego, M., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., Atomic Spectr., 1985, 6, 16.
24. Tyson, J.F., Analyst, 1984, 109, 319.
25. Zagatto, E.A.G., Krug, F.J., Jacintho, A.O., Reis, B.F., Bruns, R.E. și Aranjó, M.C.U., Anal. Chim. Acta, 1983, 145, 169.
26. Ruzicka, J., Hansen, E.H., Ghose, A.K. și Mottla, H.A., Anal. Chem., 1979, 51, 199.

27. Simpson, S.F. și Holler, F.J., Anal. Chem., 1982, 54, 43.
28. Ruzicka, J., Hansen, E.H. și Zagatto, E.A.G., Anal. Chim. Acta, 1977, 88, 1.
29. Van Staden, J.F., Analyst, 1988, 113, 885.
30. idem, Anal. Chim. Acta, 1989, 219, 55.
31. idem, Analyst, 1986, 111, 1231.
32. Ivaska, A., Ryan, T., Collect. Czech. Chem. Commun., 1981, 46, 2865.
33. Berthod, A., Laserna, J.J. și Winefordner, J.D., Appl. Spectr., 1987, 41, 1137.
34. McLeod, C.W., J. Anal. Atom. Spectr., 1987, 2, 549.
35. Tyson, J.F., Adeeyinwo, Ch.A. și Býsořh, St.R., J. Anal. Atom. Spectr., 1989, 4, 191.

4.5. Tehnici utilizate în FIA

În cele ce urmează vom prezenta cele mai importante tehnici utilizate în FIA. De la cele mai simple, cu o singură linie, și în care dispozitivul FIA are rolul exclusiv de a transporta într-un mod rapid și reproductibil proba injectată la detector, pînă la cele mai complexe și în care dispozitivul FIA este folosit la efectuarea a o serie de tratamente chimice și/sau fizice asupra probei de analizat înainte ca aceasta să ajungă la detector. Toate acestea au la bază conceptul de dispersie controlată, caracteristic pentru FIA.

4.5.1. Tehnici FIA cu o singură linie

Cel mai simplu sistem FIA constă dintr-un tub prin care circulă un flux transportor spre detectorul în flux și în care se injectează proba de analizat. În funcție de caracteristicile sistemului FIA (lungimea tubului prin care se transportă probă, geometria acestuia, volumul probei injectate) și de elementul de fluid de pe gradientul de concentrație selectat pentru efectuarea determinărilor se pot obține valori mici, medii sau mari ale coeficientului de dispersie.

Sistemele cu dispersie limitată $D < 2$ se folosesc atunci cînd se dorește o amestecare cît mai redusă a probei cu fluxul transportor. Își găsesc aplicații în situațiile în care nu este necesar ca proba de analizat să reacționeze cu componenții fluxului transportor.

Sistemele FIA cu dispersie medie $3 < D < 10$ își găsesc aplicații în special atunci cînd se dorește o amestecare într-un anumit grad a probei de analizat cu fluxul transportor, pentru a avea loc o reacție chimică între specia de analizat și unul sau mai mulți reactivi conținuți în flux. Sistemele FIA cu dispersie mare, $D > 10$, își găsesc aplicații în special la executarea unor titrări prin metoda injectării în flux (cap. 4.5.7.5.)

Tehnici FIA cu o singură linie, fără o reacție chimică

În acest caz, fluxul acționează numai ca un mijloc de transport al probei spre detector, sau ca un mijloc de introducere reproductibilă a probei în detector. Este de dorit ca valorile coeficientului de dispersie al probei, D , să fie mai mici decît 3, pentru a nu dilua prea mult proba de analizat, care ar duce la scăderea sensibilității determinărilor.

Pentru a avea valori mici ale lui D este necesar ca lungimea și diametrul tubului ce unește valva de injectare cu detectorul să fie cît mai mici, iar volumul probei injectate și debitul fluxului trebuie să fie mari.

ada 309/1992 Feb. 10

În funcție de detectorul folosit se pot face determinări ale unor ioni metalici prin absorbție atomică. [1-4], determinări potențiometrice de pH [5-7], determinări cu electrozi ionselectivi, determinări amperometrice [8], determinări fotometrice directe [9] etc.

Schema de principiu a unui montaj FIA cu o singură linie cu ajutorul căruia se pot efectua determinările de mai sus este prezentată în fig. 4.43.

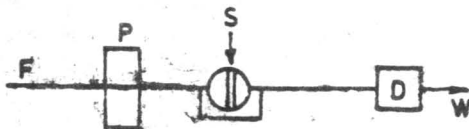


Fig. 4.43. Sistem FIA cu o singură linie, adecvat pentru determinări bazate pe o dispersie limitată a probei injectate. P, flux transportor, S, probă, D, detector, W, rezidui.

Pentru determinarea prin absorbție atomică a unor ioni metalici [1,2] fluxul transportor este constituit dintr-o soluție $5 \cdot 10^{-4} M$ acid sulfuric. În fig. 4.44. a se prezintă rezultatele obținute pentru analiza unor etaloane de zinc în domeniul 0,1-2,0 ppm, fiecare soluție fiind injectată de o dată trei ori. Avantajele cuplării FIA cu spectrometria de absorbție atomică se pot vedea din fig. 4.44. b. Semnalul este mai mic în FIA, numai 80-90 % din cel obținut pentru o aspirare continuă a probei, dar, în schimb, durata unei determinări este semnificativ mai redusă.

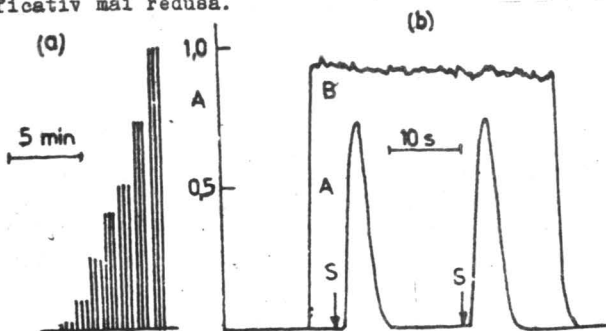


Fig. 4.44. Înregistrări obținute cu un dispozitiv FIA cuplat

cu un spectrometru de absorbție atomică. a) Inregistrări obținute la injectarea unor soluții etalon de zinc cu volume de 150 μ L și concentrații de 0,10; 0,20; 0,50; 0,75; 1,0; 1,5 și 2,0 ppm Zn. b) Inregistrare obținută pentru soluția standard de zinc de concentrație 1,5 ppm. A) injectare în sistemul FIA, B) Aspirare continuă prin metoda convențională, S, punctul de injectare.

Pentru a obține o sensibilitate și precizie optime prin cuplarea unui dispozitiv FIA un spectrometru de absorbție atomică, este necesar ca debitul fluxului transportor pompat în sistemul de pulverizare să fie mai mare decât debitul obișnuit de aspirare al acestuia.

De remarcă este faptul că sistemul de aspirare și arzătorul sînt expuse probei numai scurt timp, după fiecare probă urmînd un timp relativ lung de spălare. Aceasta permite analiza unor probe cu un conținut ridicat de săruri (apa de mare) sau cu altă matrice complexă fără nici un efect negativ (pulverizare necorespunzătoare, infundarea pulverizatorului sau a arzătorului etc.).

În fig.4.45 se prezintă rezultatele experimentale obținute la determinarea pH-ului unor soluții etalon utilizînd un montaj FIA, avînd drept detector un electrod de sticlă capilar.

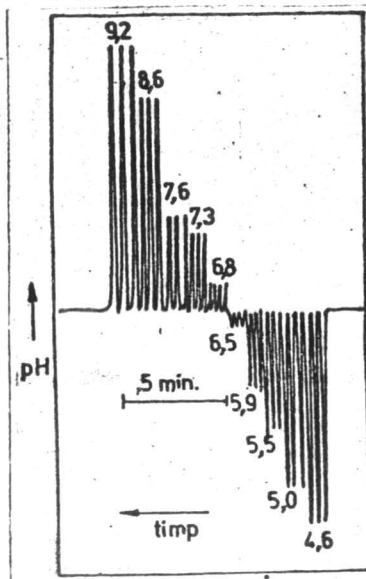


Fig. 4.45. Rezultatele obținute la determinarea pH-ului unor soluții etalon utilizînd un sistem FIA cu dispersie limi-

tată. Electrocul indicator este un electrod de sticlă tubular, iar electrodul de referință, un electrod de calomel. Fluxul transportor este o soluție tampon 0,2 mM fosfat în 0,14M NaCl (pH=6,64). Fiecare probă cu volumul de 30 μ L este injectată în triplicat.

Fluxul transportor utilizat pentru determinarea pH-ului unor soluții trebuie să îndeplinească mai multe condiții, și anume:

- trebuie să aibă o conductanță suficient de mare, astfel ca rezistența dintre electrodul de sticlă și electrodul de referință situat în continuare în flux să fie mică,

- pH-ul său să fie aproximativ la mijlocul domeniului de pH în care se fac măsurătorile,

- capacitatea sa de tamponare trebuie să fie mică (preferabil de cel puțin 10 ori mai mică) decât capacitatea de tamponare a probei injectate.

Dacă soluția analizată are capacitatea de tamponare foarte mică, este indicat ca volumul probei injectate să fie mare, 150-300 μ L [7] astfel ca să se atingă practic valoare D=1, iar proba să ajungă nediluată la detector.

La determinarea pH-ului unor probe de ser pot fi analizate prin această metodă un număr de 240 probe/oră, răspunsul fiind obținut la 5 secunde după injectare.

Un montaj FIA cu dispersie limitată poate fi utilizat și pentru determinarea activității calciului în ser, sau așa numitei fracții de calciu ionizată [10]. Electrocul de calciu se folosește într-un montaj în cascadă.

Rezultatele bune se obțin și cu electrozi enzimatici în care o membrană ce conține una sau mai multe enzime imobilizate este plasată în fața suprafeței active a unui detector electrochimic (amperometric, potențiometric etc.). Substanța de analizat este transportată prin difuzie în membrană, unde este degradată enzimatic, formându-se un produs ce este apoi determinat electrochimic. Pentru a se obține o dependență liniară între concentrația analitului și răspunsul detectorului este necesar ca valoarea concentrației substratului (substanța de analizat) să fie mult mai mică decât constanta Michaelis-Menten, astfel ca reacția enzimatică să fie o reacție de ordinul I. Domeniul de măsură dinamic al electrodului poate fi modificat prin variația debitului în sistemul FIA. Aceasta deoarece gradul de conversie al substanței analizate este funcție de timpul de

contact al acesteia cu suprafața stratului de enzimă.

Tehnici FIA cu o singură linie și cu reacție chimică

În aceste sisteme, fluxul purtător conține reactivul (sau reactivii) care vor forma în urma unei reacții chimice cu substanța de analizat produși cu proprietăți măsurabile. Este necesară o anumită dispersie a substanței de analizat în fluxul transportor care trebuie să fie mai mare decât în situația precedentă. De altfel, chiar existența unei reacții chimice este un factor de contribuție la mărirea dispersiei. Valorile coeficientului de dispersie sînt cuprinse între 3 și 10, ceea ce corespunde unei dispersii în mediu.

Din punct de vedere analitic, sistemele cu dispersie medie sînt cele mai interesante. Ele cuprind un mare număr de metode în care unul sau mai mulți reactivi sînt amestecați cu soluția probei pentru a forma compuși colorați, fluorescenți, electroactivi, sau care pot fi puși în evidență pe baza unei alte proprietăți de către o celulă în flux. Pentru acest tip de determinare trebuie să aibă loc nu numai o amestecare suficientă între probă și reactivi dar, de asemenea, trebuie să treacă suficient timp pentru a se produce o cantitate măsurabilă din produsul de reacție. Nu este încă necesar să se atingă echilibrul chimic pentru a se putea efectua determinări analitice corecte. De fapt, aici apare o limitare importantă a metodei de analiză cu injecție în flux, reacțiile cu viteză mică nu pot furniza o concentrație suficientă din produsul ce urmează să fie detectat, deoarece timpul scurs între injectarea probei și detecție este scurt, de ordinul 30 s. Din fericire, cele mai multe metode analitice folosite în practică sînt bazate pe reacții chimice rapide.

Multe metode colorimetrice simple ce necesită o dispersie medie pot fi adaptate la un dispozitiv FIA cu o singură linie. Proba se injectează direct într-un flux transportor ce conține reactivul. În acest mod se procedează la determinarea apei prin adaptarea metodei Karl-Fisher la FIA. Apa poate fi determinată în domeniul de concentrații 0,01-5 % (v/v) pentru un volum al probei injectate de 2 μ L.

Metoda a fost aplicată la probe de etanol [11] și penicilină [12]. Această metodă de determinare a apei a fost îmbunătățită prin aplicarea modului de lucru în flux stopat, prin înlocuirea piridinei din reactivul Karl Fisher cu un tampon acid acetic-acetat și prin utilizarea unei soluții stabilizate de iod în metanol ca reactiv cu iod. În acest caz succesiunea de reacții pe care se bazează determinarea este următoarea:



Curba de calibrare este liniară în domeniul 0,02-0,2 mg/mL, permițând determinarea cu o eroare relativă standard de 0,2-0,5%. Pentru fiecare determinare sînt necesare numai 5 secunde [13].

Un alt exemplu de determinare colorimetrică de acest tip este determinarea azotului bazată pe reacția foarte rapidă a acestuia cu sulfanilamida, compusul format fiind ulterior cuplat cu N-(1-naftil)-etilendiamină, cînd se formează un compus intens colorat în roz, a cărui absorbantă este măsurată la 540 nm [14].

Determinarea fluorimetrică a compușilor organici se poate face de asemenea utilizînd un montaj FIA cu o singură linie. Astfel, se pot determina aminerile primare totale și aminoacizii în apa de mare și nectarul plantelor, pe baza măsurării fluorescenței produsului lor de reacție cu o-ftalaldehidă [15].

Tehnicile electroanalitice au fost utilizate în mare măsură ca sisteme de detecție pentru un montaj FIA. Astfel, formarea unor coloranți electroactivi constituie baza unor metode amperometrice de determinare a aminelor [16]. Prin această metodă au fost determinați și anumiți coloranți alimentari [17]. În ceea ce privește reacțiile enzimactice, urmate de detecția electrochimică a unor produși rezultați este de menționat determinarea lactatului, prin reducerea cu lactat dehidrogenază, urmată de detecția cu un electrod de grafit sticlos [18].

4.5.2. Tehnici FIA cu două sau mai multe linii

Una din liniile utilizate în acest tip de sisteme FIA servește la transportul unui flux purtător sau a unui flux de reactiv, în care se injectează proba de analizat. Cealaltă linie, ce are un punct de confluență cu prima, fie înainte, fie după valva de injectare, poate îndeplini o serie de funcții, cea mai obișnuită dintre acestea fiind de a transporta un flux de reactiv la punctul de confluență cu fluxul ce transportă zona probei. Cea de a doua linie poate servi și ca un mijloc de omogenizare al probei, în acest caz fluxul transportat avînd aceeași compoziție ca și a celui utilizat în prima linie. De menționat că cea de a doua linie poate îndeplini și alte funcții, care vor fi discutate în continuare. Si în cazul sistemelor FIA cu două linii determinările se pot face pe baza unei reacții chimice sau fără o reacție chimică.

Tehnici FIA cu două linii, fără reacții chimice

Determinarea FIA a ionului NO_3^- folosind drept detector un electrod ion selectiv se poate face dintr-o mare varietate de probe, cum ar fi extracte de sol, ape reziduale, îngrășăminte etc. Pot fi analizate un număr de aproximativ 90 probe pe oră cu o deviație standard de ordinul 1-2%, folosind un montaj ca cel prezentat în fig. 4.46 [19].

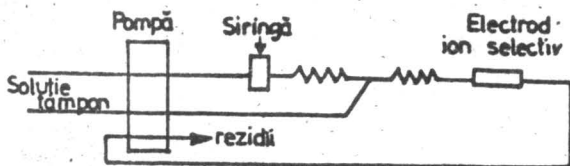


Fig. 4.46. Schema montajului FIA utilizat pentru determinarea ionului NO_3^- folosind drept detector un electrod ion selectiv.

Probele analizate, în funcție de originea lor, pot avea pH-uri și tării ionice foarte diferite, din acest motiv, pe lângă injectarea probei într-un flux de soluție tampon cu capacitate de tamponare mare, după injectare se introduce în fluxul principal un al doilea flux de soluție cu aceeași compoziție cu primul, care are rolul de a se amesteca cu proba de analizat, reglându-i astfel pH-ul, fără să o dilueze prea mult.

Sistemele FIA cu două linii fără reacție chimică au utilizări reduse, mult mai utilizate sînt sistemele FIA cu două linii în care determinările se fac în urma unor reacții chimice.

Tehnici FIA cu două sau mai multe linii cu reacții chimice

Aceste sisteme FIA au o largă utilizare. Detecția se poate face prin foarte multe metode: fotometric, fluorimetric, prin chemiluminiscentă, electrochimic etc.

Utilizînd un montaj FIA cu două sau mai multe linii se pot efectua numeroase tipuri de dozări, în care unul sau mai mulți reactivi trebuie amestecați cu proba de analizat înainte de efectuarea măsurătorii.

Reactivii pot fi introduși fie după injectarea probei de analizat, fie pot fi preamestecați înainte de injectarea probei. Această ultimă variantă se aplică atunci cînd amestecul celor doi reactivi nu este stabil în timp. Astfel, reacția calciului cu o-cre-

sol-ftaleincomplexon, ce duce la formarea unui complex intens colorat, are loc în mediu alcalin, condiții în care reactivul nu este stabil. Din acest motiv, pentru determinarea calciului se utilizează un montaj FIA cu două linii, în care un flux de reactiv este preamestecat cu un flux de bază, chiar înainte de injectarea probei de analizat, produsul de reacție fiind apoi determinat spectrofotometric.

Metodele FIA în care unul sau mai mulți reactivi sînt introduși în flux după injectarea probei sînt foarte numeroase.

Clorul rezidual din ape poate fi determinat prin metoda FIA [20] utilizînd un montaj ca cel prezentat în fig. 4.47.

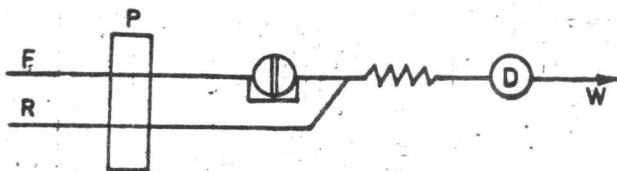


Fig. 4.47. Montaj FIA cu două linii utilizat la determinarea clorului rezidual din ape.

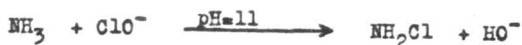
Fluxul transportor este o soluție 0,1 M de HCl iar reactivul o soluție 3,0 mM de o-tolidină. Prin oxidarea reactivului de către clorul liber, se formează un produs de reacție galben a cărui absorbanță este determinată spectrofotometric. Pot fi analizate un număr de 200 probe pe oră, cu o limită de detecție de 0,08 ppm.

Determinarea lactatului în probe de ser precipitate se poate face cu o bună sensibilitate și rapiditate [21] folosind următoarea reacție enzimatică:



Reacția este catalizată de enzima lactat dehidrogenază (LDH). Echilibrul poate fi deplasat spre dreapta prin introducerea în mediul de reacție de hidrazină, care formează o hidrazonă cu piruvatul. NADH este determinat fluorimetric, concentrația sa fiind funcție de concentrația lactatului.

Un montaj FIA cu trei linii este folosit la determinarea printr-o reacție catalizată enzimatică a ureei [22] din ser. Se formează în final un compus intens colorat, în urma succesiunii reacțiilor de mai jos:



Ureea este convertită la amoniac de către enzima urează. Reacția trebuie să aibă loc la pH=7, deoarece activitatea ureazei descrește la valori mai mici sau mai mari de pH. Următoarea etapă este formarea cloraminei în mediu puternic bazic, urmată de o reacție în două etape cu fenol cu formarea în final a albastrului de indofenol. Deoarece albastrul de indofenol este un indicator atât de pH (pK=8,1) cât și redox, pH-ul fluxului transportor trebuie menținut sub valoarea lui și totodată trebuie să fie prezent un exces de hipoclorit. Metoda permite determinarea ureei în domeniul de concentrații 2-20mM, într-o oră putând fi analizate 110 probe. Schema montajului FIA utilizat este prezentată în fig. 4.48.

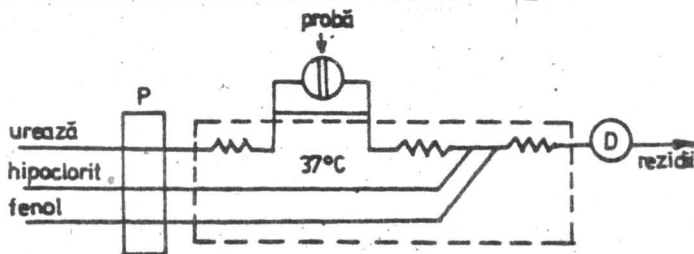


Fig. 4.48. Montaj FIA pentru determinarea ureei în ser. Explicații în text.

În fig.4.49 se prezintă un montaj FIA utilizat la determinarea spectrofotometrică a calculului în lapte utilizând reacția cu o-crezolftalin-complexon [23]. Probele de analizat sînt mai întîi deproteinizate prin dializă, apoi sînt amestecate cu un flux de reactiv în mediu alcalin. Produsul de reacție este măsurat la 580 nm. Se introduc probe cu volumul de 100 μL . Pot fi analizate un număr de 180 probe pe oră.

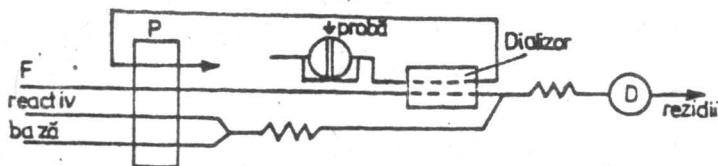
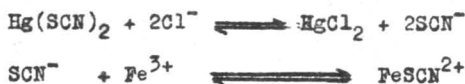


Fig. 4.49. Montaj FIA pentru determinarea calciului din lapte.
Explicații în text. F, flux transportor.

Ionul clorură poate fi determinat din numeroase tipuri de probe prin înlocuirea ionului tiocianat din tiocianat de mercur, urmată de reacția tiocianatului cu ioni de Fe^{3+} , cu care se formează un compus colorat. Succesiunea de reacții este următoarea:



Un alt exemplu este determinarea glucozei din serul uman [24] detecția făcându-se prin chemiluminiscență. Succesiunea de reacții este următoarea: glucoza este degradată enzimatic cu glucozoxidază când se formează acid gluconic și apă oxigenată. Apa oxigenată reacționează în continuare cu luminol și fericianură de potasiu, această reacție fiind de chemiluminiscență. Radiația emisă se măsoară cu ajutorul unui tub fotomultiplicator.

Metoda clasică de determinare a amoniului cu reactiv Nessler a fost adaptată pentru determinări FIA [25]. Detecția se face turbidimetric. Concentrația minimă ce poate fi determinată este de 0,5 g/ml. Pot fi analizate un număr de 100 de probe pe oră.

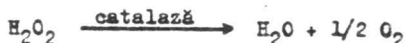
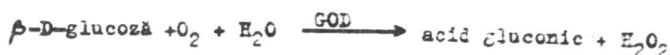
4.5.3. Tehnici FIA cu buclă închisă

Tehnicile FIA cu buclă închisă diferă de tehnicile obișnuite, prin aceea că după efectuarea măsurărilor, fluxul este recirculat (nu este trimis la rezidii), putându-se astfel realiza un mare număr de determinări cu aceeași soluție.

Aceste tehnici pot fi efectuate folosind o unitate de regenerare a reactivului, sau de îndepărtare a produșilor de reacție rezultați, sau fără o asemenea unitate.

4.5.3.1. Tehnici cu o unitate de regenerare a reactivului sau de îndepărtare a produșilor de reacție

Glucoza poate fi determinată dintr-o varietate de probe pe baza următoarelor reacții enzimatiche:



unde GOD este glucozoxidază.

Prin măsurarea consumului de oxigen prezent în stare dizolvată în soluție datorită reacției enzimaticе, se poate realiza o determinare cantitativă a glucozei. Oxigenul dizolvat se poate determina amperometric, folosind în acest scop un montaj cu trei electrozi și anume: un electrod de lucru (o sîrmă de platină), un electrod de referință (un electrod de calomel) și un contraelectrod de platină.

Prin înglobarea acestui sistem de electrozi într-un montaj FIA în buclă închisă (fig.4.50) în care se recirculă o soluție care conține glucozoxidază s-a putut realiza determinarea glucozei dintr-un număr mare de probe, folosind aceeași soluție de enzimă [26].

Regenerarea reactivului consumat în reacția enzimatică, în acest caz oxigenul dizolvat în soluție, se realizează printr-o pompă a lichidului din vasul B înapoi în vasul A, debitul pompei peristaltice fiind mai mare decît cel al fluxului de lichid ce curge ca urmare a gravitației din vasul A în vasul B. Datorită acestui lucru pompa aspiră și aer, care saturează soluția cu oxigen.

Metoda prezintă totuși dezavantajul, că în timp, are loc o descreștere a activității enzimei (80% într-o lună, la temperatura camerei) și, de asemenea, are loc o diluare progresivă a soluției de enzimă și, eventual, o contaminare a acesteia după injectarea unui mare număr de probe de analizat. Metoda a fost aplicată la determinarea glucozei din serul uman. Cu aceeași soluție a enzimei (cu volumul inițial de 200 mL) se pot face peste 10.000 de determinări injectîndu-se probe de ser cu volumul de 20 μL .

Erorile ce pot apare datorită micșorării activității enzimei pot fi eliminate prin injectarea periodică a unor soluții etalon de glucoză, față de care se calculează concentrațiile probelor necunoscute.

În fig. 4.51 se prezintă un montaj FIA cu buclă închisă prevăzut cu o unitate de regenerare a reactivului și de îndepărtarea a produșilor de reacție, utilizat, la determinarea catalitică a Cu^{2+} [27].

Se utilizează următoarea reacție catalizată de ioni de Cu^{2+} :



Reacția necatalizată nu este suficient de lentă pentru a da o linie de bază stabilă. Pentru a se evita acest inconvenient, unul din reactivi (soluția de tiosulfat) este injectat simultan cu proba de analizat.

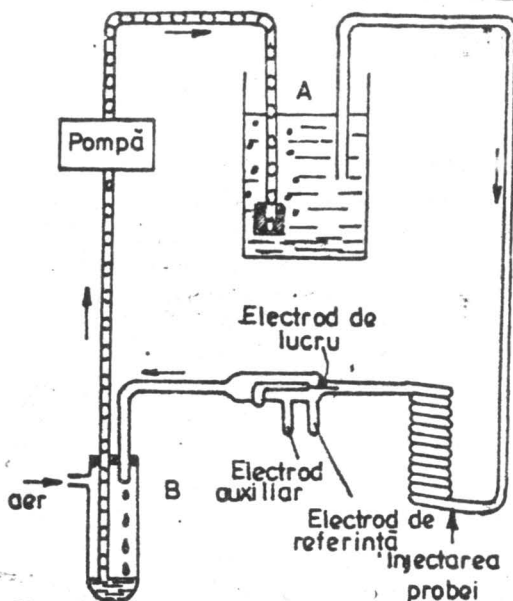


Fig. 4.50. Sistem FIA cu buclă închisă pentru determinarea glucozei prin măsurarea amperometrică a concentrației de oxigen dizolvat. De la A la B soluția curge datorită gravitației. Din vasul B soluția este transportată de o pompă peristaltică înapoi la A. Debitul pompei peristaltice este mai mare decât al fluxului de lichid ce curge în vasul B, ceea ce face să aspire și aer, care saturează soluția cu oxigen.

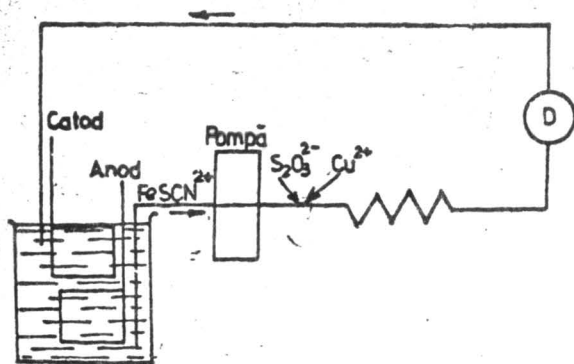


Fig. 4.51. Sistem FIA cu buclă închisă cu o unitate de regenerare a reactivului și de îndepărtare a produsului de reacție, folosită la determinarea catalitică a Cu^{2+}

Soluția ce se recirculă conține ionii de Fe^{3+} și SCN^- , care formează specia colorată FeSCN^{2+} . Viteza reacției catalizate (și necatalizate) de ionii de Cu^{2+} este determinată prin măsurarea scăderii absorbanței complexului colorat, datorită consumării ionilor de Fe^{3+} . După măsurarea absorbăției fluxului de lichid, ce conține pe lângă FeSCN^{2+} nereacționat, ioni de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ în exces, ioni de Cu^{2+} și de Fe^{2+} , acesta revine în rezervorul de lichid, unde prin electroliză are loc o regenerare a speciei Fe^{3+} , prin oxidare anodică a Fe^{2+} , reducerea la metal a Cu^{2+} , descompunerea la dioxid de sulf a tiosulfatului de sodiu

Metoda a fost aplicată la determinarea Cu^{2+} în serul uman [27]. Pot fi analizate 325 probe pe oră, cu o limită de detecție de 0,25 $\mu\text{g/L}$ și o eroare relativă standard de 2%.

4.5.3.2. Tehnici fără o unitate de regenerare a reactivului, sau de îndepărtare a produșilor de reacție

Aceste sisteme pot aparține la două categorii. O primă categorie cuprinde acele sisteme în buclă închisă în care se realizează o regenerare a reactivului pe baza unei reacții cu un component al fluxului de lichid, fără a se folosi unități speciale de regenerare. Cea de a doua categorie include sistemele în care nu se realizează în nici un mod regenerarea reactivului. Roehring și colab. [28] au realizat un sistem FIA cu buclă închisă pentru determinarea glucozei în serul uman pe baza reacției enzimatice catalizate de glucozdehidrogenază în prezență de NAD^+ . Determinările se fac prin măsurarea absorbăției formei NADH rezultate în urma reacției enzimatice. Introducerea în fluxul de lichid a unei alte enzime glutamat dehidrogenaza, GLDH , determină o reacție de regenerare a NAD^+ , în prezență de α -ceto-glutarat:



Metoda prezintă marele avantaj că NAD^+ , care este destul de scumpă, nu se pierde, așa cum se întâmplă în sistemele FIA obișnuite, putînd să fie utilizată pentru un mare număr de determinări.

Sistemele FIA cu buclă închisă în care nu se folosește regenerarea reactivului sau îndepărtarea produșilor de reacție sînt cele mai simple. În cazul acestora are loc o deplasare continuă a liniei de bază a detectorului, datorită produșilor de reacție care se acumulează în sistem și datorită reducerii concentrației soluției de reactiv de către proba injectată. Această deplasare este însă lentă, datorită faptului că volumul probei injectate este foarte mic comparativ cu volumul total al soluției de reactiv.

4.5.4. Tehnici FIA cu luarea probei din zona dispersată și cu captarea zonei dispersate

Tehnicile FIA cu luarea probei din zona dispersată se bazează pe prelevarea unei părți din zona respectivă și introducerea sa într-un flux transportor [29]. Montajul FIA folosit este compus din cel puțin două părți, fiecare comportându-se ca un sistem independent de analiză prin injectare în flux (fig. 4.52.).

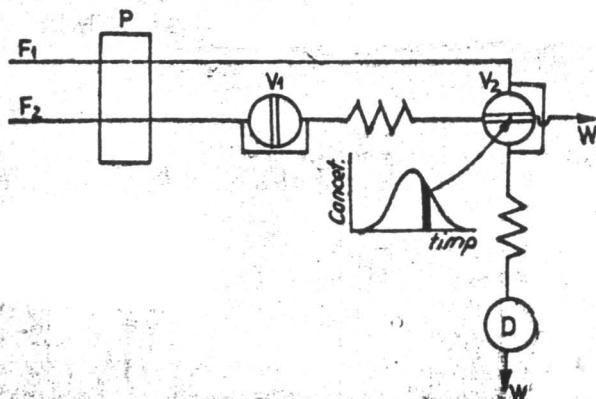


Fig. 4.52. Montaj FIA pentru aplicarea tehnicii de luare a probei din zona dispersată, F_1 și F_2 fluxuri transportoare, P, pompă, V_1 și V_2 , valve de injectare, W, rezidii.

Proba de analizat se injectează într-un flux purtător F_1 , cu ajutorul valvei V_1 , iar după un anumit timp, bine determinat, se extrage din flux o porțiune a zonei dispersate, cu ajutorul unei valve, V_2 . Proba astfel prelevată este injectată într-un al doilea flux, F_2 , unde are loc dispersia și transportul ei mai departe la detector și rezidii.

Extragerea unei mici porțiuni din zona dispersată și injectarea sa într-un al doilea flux transportor este un mijloc eficient de a realiza o dispersie mare a probei în fluxul transportor. Această metodă este mult mai indicată decât utilizarea unor volume foarte mici ale probelor injectate, întrebuițarea unor tuburi foarte mici în care are loc dispersia, sau a altor mijloace mai complexe.

Tehnica de luare a probei din zona dispersată poate fi utilizată pentru efectuarea unor anumite tipuri de determinări simultane, mai ales atunci când este nevoie de un grad de dispersie diferit.

pentru fiecare determinare. Aceasta deoarece, fiecărei porțiuni a unei zone dispersate îi corespunde o altă valoare a concentrației și prin selectarea adecvată a timpului la care se face prelevarea, pot fi introduse în flux porțiuni de zonă de concentrații foarte bine determinate.

Folosind tehnica FIA de luare a probei din zona dispersată se poate trasa o curbă de calibrare utilizând o singură soluție standard.

Tehnica FIA cu captarea zonei dispersate

Această tehnică este o variantă a tehnicii expuse mai sus, cu deosebirea că, folosind un montaj adecvat, întreaga zonă a probei dispersate este separată din fluxul transportor. După un anumit timp, când reacția dintre reactiv și probă de analizat a avut loc într-o măsură suficientă, zona probei este reintrodusă în fluxul transportor, și este transportată la detector. În acest mod se pot utiliza în FIA o serie de reacții de dozare ce decurg cu viteză mică, fără a fi necesară folosirea unor reactori foarte lungi (unde are loc o dispersie mare a probei în fluxul transportor și care prezintă rezistență hidrodinamică mare) sau a unor tehnici în flux stopat.

4.5.5. Tehnica FIA inversă

Spre deosebire de tehnica FIA obișnuită în care se face o injectare a probei într-un flux de reactiv, în cazul tehnicii FIA inverse se face o injectare a reactivului într-un flux de probă, de aici și denumirea acestei tehnici, dată de Johnson și Petty [30]. Lor le revine meritul de a stabili diferențele dintre FIA "normală" și FIA inversă, mai ales în ceea ce privește dependența dispersiei-sensibilitate și de a evidenția potențialul tehnicii FIA inverse în îmbunătățirea sensibilității determinărilor.

La utilizarea probei de analizat drept flux purtător și injectarea reactivilor în flux, la creșterea dispersiei are loc o creștere a concentrației de probă în zona reactivului. Aceasta va determina formarea unor picuri mai înalte și mai bine definite.

În FIA normală, concentrația probei este maximă în momentul injectării și tinde spre zero în timp. În FIA inversă, concentrația inițială a probei în zona de reacție este zero și crește în timp, până atinge valoarea concentrației din fluxul purtător. Dacă există o reacție chimică între probă și reactiv, concentrația speciei formate va fi mult mai mare în FIA inversă comparativ cu FIA normală. Se poate lucra cu o soluție de reactiv foarte concentrată,

ceea ce va asigura un exces al reactivului față de proba de analizat. Volumul de reactiv injectat în FIA inversă are o mult mai mică influență decât volumul de probă injectată în FIA normală. Dispersia probei în FIA normală, respectiv a reactivului în FIA inversă, depinde foarte mult de volumul injectat. Totuși, în cazul FIA inverse, concentrația probei în zona reactivului este puțin influențată de variații în diluarea reactivului, odată ce amestecarea inițială a avut loc.

FIA inversă prezintă avantaje clare atunci când vitezele reacțiilor analitice sînt mici și este necesar de a mări timpul de rezidență al probelor. Aceasta se realizează în general în FIA normală prin stoparea fluxului, în timp ce proba dispersată în fluxul de reactiv se găsește în tubul de reacție. Acest lucru nu este necesar în FIA inversă, deoarece creșterea dispersiei datorită unui timp de rezidență mai lung, fără oprirea fluxului, tinde să crească concentrația probei în zona reactivului. Mărirea gradului în care are loc reacția poate fi realizată prin injectarea unor volume mai mari de reactiv, crescînd astfel concentrația reactivului și viteza de reacție.

Tehnica FIA inversă prezintă o sensibilitate mai mare a determinărilor în comparație cu tehnica FIA normală [31, 32].

Tehnica FIA inversă are și o serie de inconveniente dintre care menționăm: consumul mare de probă și numărul redus de analize ce pot fi efectuate în unitatea de timp. Din acest motiv, folosirea tehnicii FIA inversă este limitată la determinarea anumitor specii în ape reziduale sau pentru determinarea anumitor substanțe în rezidii (cantitatea de probă consumată nemaifiind un factor limitativ).

4.5.6. Tehnici FIA bazate pe multidetecție și multideterminare

Tehnicile FIA bazate pe multidetecție și multideterminare sînt relativ puțin studiate pînă în prezent, cu toate să prezintă avantaje deosebite. Astfel, prin aceste tehnici se pot efectua o serie de studii sau determinări cinetice, sau se pot face determinări simultane ale mai multor specii de analizat din aceeași probă injectată.

În literatura de specialitate aceste tehnici au fost discutate în două articole de sinteză [33, 34] dîndu-se următoarele definiții ale termenilor de multidetecție și multideterminare.

Multidetecția. Se injectează o singură probă, de la care se obțin două sau mai multe semnale care se pot înregistra în mai multe moduri:

- cu un singur detector, obținându-se o serie de semnale decalate în timp (fig. 4.53.a)
- cu un singur detector ce funcționează la parametrii de lucru diferiți (lungime de undă, potențial etc.) realizându-se de exemplu un baleiaj într-un anumit domeniu de lucru al detectorului pentru fiecare secțiune a zonei dispersate (fig.4.54)
- cu mai mulți detectori de același tip plasați în serie (fig. 4.53.b) sau în paralel.

Multidetecția se poate realiza deci succesiv, obținându-se mai multe valori ale unui parametru măsurat, la anumite intervale de timp, folosind în acest scop unul sau mai mulți detectori, sau simultan, utilizând un singur detector ce efectuează măsurători simultane la diferiți parametri de lucru ai aparatului.

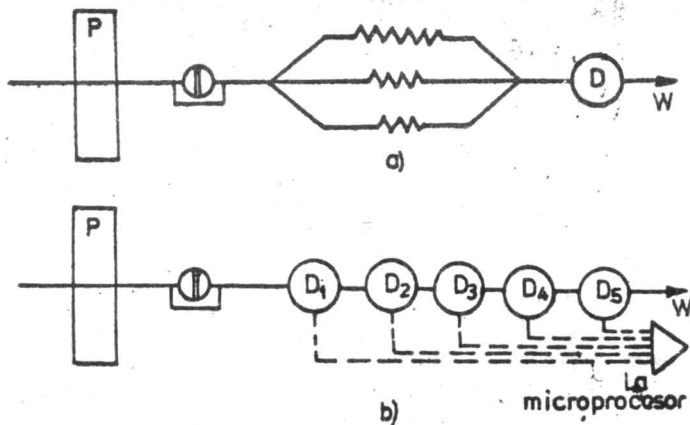


Fig. 4.53.. Montaje FIA pentru efectuarea multidetecției succesive (o singură probă injectată). a) separarea zonei injectate în mai multe subzone egale ce ajung la același detector după intervale diferite de timp. P, pompă, D, detector. b) utilizarea a mai multor detectori plasați în serie, răspunsul fiecăruia fiind trimis la un microprocesor în vederea prelucrării.

Multideterminarea uneia sau a mai multor specii de analizat dintr-o probă se poate face secvențial prin efectuarea unui număr

cel 309/1992 *Fisc. II*

de injectări din proba de analizat egal cu numărul speciilor de dozat sau simultan, prin determinarea mai multor specii de analizat din aceeași probă injectată.

Considerăm însă că definițiilor de mai sus, pentru multidetecție și multideterminare, nu trebuie interpretate restrictiv, fiind de fapt dificil de a face o delimitare netă între cele două tehnici. Astfel, se poate spune că multideterminarea poate fi realizată prin multidetecție în timp ce multidetecția nu înseamnă neapărat multideterminare.

Aplicând tehnica de multidetecție simultană pot fi puse în evidență și valorificate mult mai complet informațiile analitice conținute în gradientul de concentrație al probei injectate. Această tehnică de efectuare a măsurătorilor prin baleiajul unor parametrii de lucru ai aparatului într-un punct al zonei injectate este discutată și în cap.4.5.7.2. În fig. 4.54 se prezintă rezultatele obținute la folosirea unui detector flamfotometric pentru multidetecție simultană [35]. Se obțin înregistrări care ne redau intensitatea radiației emise în funcție de lungimea de undă și de timp.

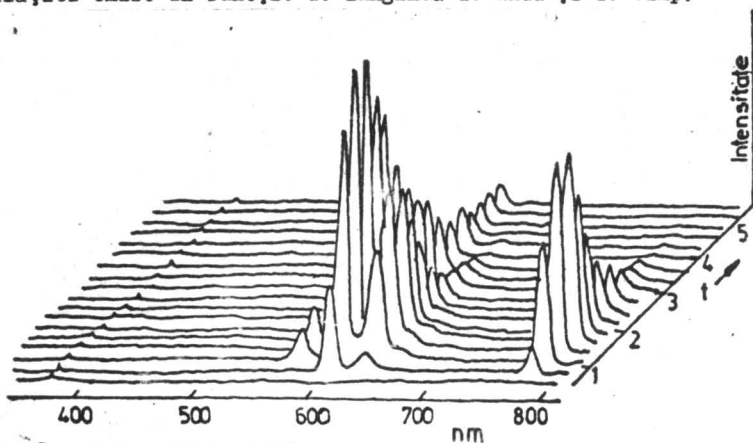


Fig. 4.54. Aspectul înregistrărilor obținute la efectuarea multidetecției simultane cu un detector flamfotometric.

Datele prezentate în fig. 4.54 ne indică faptul că din aceeași probă injectată pot fi determinate simultan mai multe elemente, se realizează deci o multideterminare. În plus, pentru fiecare element analizat se poate alege acea valoare a intensității semnalului de pe gradientul de concentrație al probei, pentru care

măsurarea acestuia se face cu precizie maximă. Atunci când un element este în concentrație mică, determinarea sa se face prin măsurarea înălțimii semnalului la maximul picului. Dacă elementul este în concentrație foarte mare, determinarea se va face prin măsurarea înălțimii semnalului într-un punct aflat pe porțiunea descrescătoare a picului zonei injectate, cu atât mai departe de maximul picului cu cât proba este mai concentrată. Procedând în acest mod, din aceeași probă injectată pot fi determinate elemente aflate în concentrații foarte diferite.

În cele ce urmează nu ne propunem o prezentare exhaustivă a tehnicilor FIA bazate pe multidetecție și multideterminare, ci vom evidenția numai câteva din posibilitățile acestor tehnici, printr-o serie de exemple.

Un montaj de tipul celui prezentat în fig. 4.53.a a fost utilizat pentru determinarea simultană a L-lactatului, β -D-glucozei și glicerinei [36].

Din proba injectată se obțin trei zone care străbat drumuri de lungimi diferite prin cele trei spirale, reîntîlnindu-se apoi în punctul de confluență. Fiecare spirală este de fapt un microreactor ce conține o enzimă imobilizată și anume: lactatdehidrogenază, gliceraldehiddehidrogenază și glucozdehidrogenază. Fluxul transportor conține pe lângă alte componente și NAD^+ (nicotinamid adenin dinucleotid) care participă la reacțiile catalizate de dehidrogenazele menționate, trecînd în forma redusă NADH. De exemplu:



Concentrația NADH produsă, care este funcție de concentrația substratului analizat, este apoi determinată fluorimetric ($\lambda_{\text{ex}}=340 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=470 \text{ nm}$). Pentru fiecare probă injectată se va obține o succesiune de trei picuri, a căror înălțime este funcție de concentrația L-lactatului, β -D-glucozei și glicerinei.

Folosind un montaj a cărui schemă de principiu este prezentată în fig. 4.53.b Virtanen [37] propune o metodă pentru determinarea din aceeași probă injectată a Na^+ , K^+ , Ca^+ și Cl^- , folosind drept detectori electrozi ion selectivi. Metoda a fost aplicată pentru determinarea ionilor respectivi din probe de ser.

Van Staden [38] prezintă o metodă de determinare simultană a Cl^- și pH-ului.

Determinarea simultană a urmelor de Fe(III) și Sn(IV) a fost realizată folosind drept reactiv de culoare tironul [38]. S-a folosit un montaj ca cel prezentat în fig. 4.55.

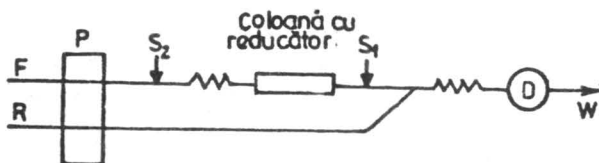


Fig. 4.55 . Schema montajului FIA folosit la determinarea simultană a Fe(III) și Ti(IV) cu tiron. S_1 și S_2 reprezintă puncte de injectare ale probei, F, flux transportor, R, reactiv, D, celulă spectrofotometrică în flux.

Două volume din proba de analizat sînt injectate simultan într-un flux transportor de acid clorhidric 1 M, în punctele S_1 și S_2 . Proba injectată în S_2 va trece prin coloana ce conține un reductor în care Fe^{3+} trece în Fe^{2+} , care nu reacționează cu tironul. Pentru fiecare injectare dublă efectuată se vor înregistra două picuri alăturate, primul corespunzînd absorbției complexului format cu tironul, atît de Fe^{3+} cît și de Ti^{4+} , iar al doilea pic numai complexului format de Ti^{4+} . Pe baza înălțimii celor două picuri se pot afla concentrațiile de Fe^{3+} și Ti^{4+} din probele de analizat.

Pentru determinarea simultană a azotatului și azotitului din ape s-a propus montajul FIA prezentat în fig. 4.56 [39].

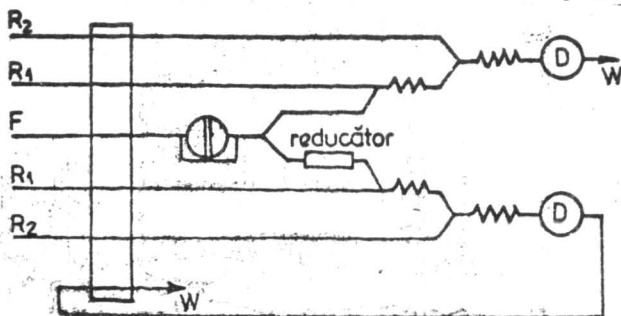


Fig. 4.56. Schema montajului FIA folosit la determinarea simultană a azotatului și azotitului din ape. Explicații în text.

Determinarea se face spectrofotometric, prin măsurarea absorbanței produsului de reacție al azotitului cu sulfanilamidă și

N-(1-naftil)-etilendiamină, soluțiile acestor reactivi fiind notate cu R_1 și respectiv R_2 în fig. 4.56. Fluxul purtător, F , conține 0,4 M clorură de amoniu și 0,3 M clorură de sodiu. Proba injectată se desparte în două subzone, una din ele trecând printr-o coloană ce conține un reducător Cd/Cu și în care azotatul este redus la azotit, determinându-se astfel suma azotat + azotit, iar din cealaltă subzonă se determină numai azotitul (azotatul nu reacționează cu reactivii menționați). Prin această metodă se pot analiza până la 30 de probe pe oră cu o eroare medie pătratică de 1%.

În fig. 4.57 se prezintă un montaj FIA utilizat la determinarea simultană [40] a ionilor K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ , Cl^- , NO_3^- și PO_4^{3-} în soluții nutritive pentru plante. Determinarea ionilor K^+ , Ca^{2+} , NO_3^- și Cl^- a fost făcută utilizând electrozi ion selectivi plasați în serie, iar a ionilor NH_4^+ și PO_4^{3-} , spectrofotometric, utilizând două canale separate. Determinarea ionului PO_4^{3-} s-a făcut prin metoda albastrului de molibden, iar a NH_4^+ prin modificarea absorbției unui flux ce conține un indicator acido-bazic, în care difuzează printr-o membrană de teflon amoniacul format prin alcalinizarea probei de analizat.

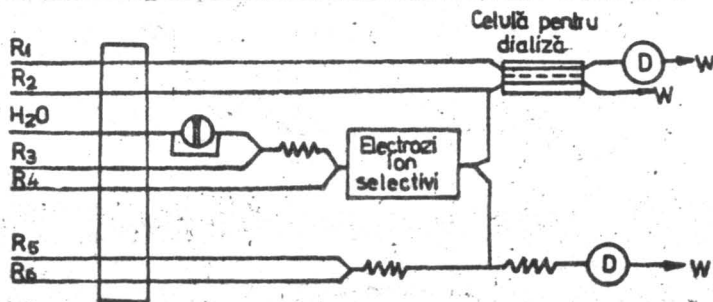


Fig. 4.57. Schema montajului FIA pentru determinări potențiometrice și spectrofotometrice simultane. R_1 , soluție de indicator acido-bazic, R_2 , NaOH 0,1 n; R_3 , 0,2 M acetat de sodiu, R_4 , 0,1 M acetat de sodiu plus 0,005 M clorură de sodiu, R_5 , soluție de molibdat acidă, R_6 , acid ascorbic 1 %.

4.5.7. Tehnici FIA cu gradienti

În general, în cazul metodelor de analiză prin injectare în flux, determinările se fac pe baza înălțimii picului înregistrat,

ceea ce corespunde unei sensibilități maxime a metodei. În unele cazuri se poate lua în calcul suprafața picului, dar aceasta destul de rar, deoarece suprafața picului este mai greu de măsurat decât înălțimea sa.

Concentrația speciei de analizat ar putea fi determinată însă prin măsurători făcute pe porțiunea crescătoare sau descrescătoare a picului FIA. Tehnicile FIA cu gradienti valorifică tocmai această informație oferită de gradientii de concentrație ai probei, formați la cele două interfețe flux purtător - probă și probă-flux purtător, deci de cele două porțiuni crescătoare și descrescătoare ale picului înregistrat. Pe acești gradienti de concentrație, coeficienții de dispersie ai probei D^S sînt mai mari decît coeficientul de dispersie la maximumul picului notat cu $D^{\max}$ (sau mai frecvent numai cu D), ceea ce face ca sensibilitatea determinărilor să fie mai mică. Aceasta constituie însă un dezavantaj de mică importanță comparativ cu posibilitățile foarte interesante pe care le oferă tehnicile FIA cu gradienti, și pe care le vom discuta în continuare.

4.5.7.1. Diluarea cu gradienti

În fig. 4.58 se prezintă principiul acestei tehnici.

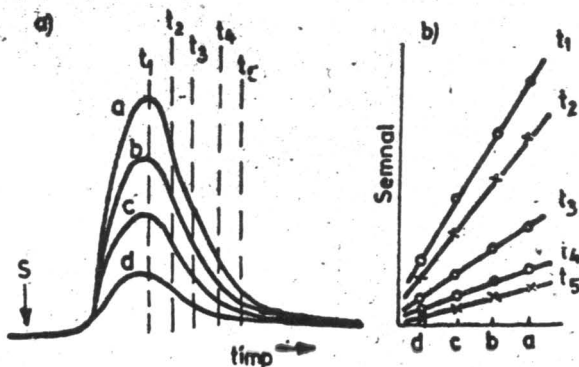


Fig. 4.58. Tehnica de diluare cu gradienti. a) Inregistrări obținute la injectarea unor soluții ale unui colorant cu același volum și de concentrație descrescătoare (a-d); b) Curbele de calibrare trasate pentru măsurători efectuate la o anumită valoare a timpului scurs de la injectarea probei.

În fig. 4.58.a se prezintă aspectul picurilor înregistrate la injectarea unor soluții colorate cu același volum și de concentrații descrescătoare (a - d).

Dacă specia ~~ce este~~ măsurată de detector se formează în urma unei reacții chimice dintre proba de analizat și reactivul conținut în fluxul transportor, poate apare o deviere de la liniaritate a curbelor de calibrare înregistrate la maximul, dau în apropierea maximului picului.

Sînt necesare mai multe condiții pentru a menține aspectul liniar al tuturor curbelor de calibrare prezentate în fig. 4.58.b [41]:

- trebuie să fie o dependență liniară între răspunsul detectorului și concentrația speciei măsurate,
- nu trebuie să apară fenomene inhibitoare, datorită reactanților sau produsilor de reacție,
- reactivul trebuie să fie în exces în elementul de fluid în care se face măsurătoarea (la timpul t).

Această tehnică se mai numește "diluare electronică". Ruzicka și colab. [41,42] propun aplicarea metodei descrise prin utilizarea unui microcalculator, în locul înregistratorului, în acest fel făcîndu-se o măsurare mai exactă a semnalelor pentru o anumită valoare a timpului. Natura procesului fizic de dispersie pe care se bazează FIA, face ca să se obțină curbe de calibrare prin colectarea datelor la anumiți timpi de întârziere fixi. Aceasta este valabil, nu numai atunci cînd are loc o simplă diluare în urma unui proces de dispersie, ci și atunci cînd dispersia este însoțită de o reacție chimică, cu condiția ca reacția chimică, fie să aibă loc cu viteză foarte mare, fie să aibă caracter liniar.

Diluarea cu gradienti se utilizează în special pentru a evita diluarea probelor prea concentrate și în cazul cîrora nu se pot efectua măsurătorile la maximul picurilor.

Drept dezavantaje ale acestei metode menționăm:

- sensibilitate mai mică a determinărilor,
- un număr mai redus de probe ce pot fi analizate în unitatea de timp, datorită timpului mai lung necesar pentru efectuarea determinărilor,
- aparatură necesară mai complexă.

De menționat că diluarea cu gradienti se poate face și în alt mod față de cel descris mai sus și anume prin captarea unei anumite porțiuni din zona probei injectate inițial și injectarea sa într-un alt sistem FIA pentru o nouă diluare și prelucrare [43, 44].

4.5.7.2. Baleiajul pe gradienti

Este o extensie a diluării cu gradienti prin faptul că se utilizează un detector dinamic, care măsoară continuu un parametru fizic al zonei dispersate printr-un baleiaj repetat într-un anumit domeniu.

Dacă viteza de baleiaj a detectorului este mult mai mare decât viteza de deplasare a fluxului transportor, zona dispersată poate avansa în timpul baleiajului și totuși ea să apară ca staționară. Dacă baleiajul nu poate fi executat atât de rapid (de exemplu în cazul spectrometriei în i.r. cu transformată Fourier) sau dacă reacția chimică ce are loc este prea lentă, atunci anumite secțiuni ale zonei dispersate pot fi stopate consecutiv în detector.

În fig.4.59 se prezintă răspunsul tridimensional înregistrat prin baleiajul pe gradienti, în cazul injectării unei soluții de 10^{-2} M Cu(II) într-un flux transportor de soluție tampon amoniacală [45].

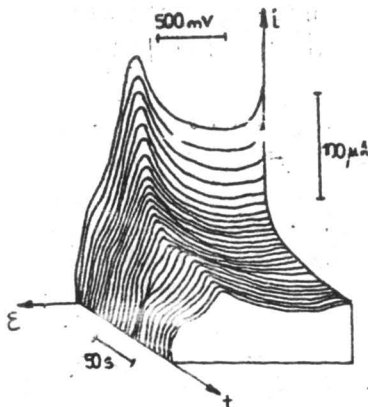


Fig. 4.59. Înregistrarea voltametrică FIA tridimensională utilizând baleiajul pe gradienti. Curentul i este înregistrat în funcție de potențial, E , și timp, t , pentru o soluție de Cu(II) injectată într-un flux amoniacal.

Fiecare baleiaj permite înregistrarea unui pic, ce corespunde complexului amoniacal, la o valoare a potențialului mai negativă decât cea corespunzătoare ionului Cu(II) necomplexat. Dacă proba de cupru a fost injectată într-un flux ce conține 10^{-2} M EDTA, în

tampon amoniacal, picurile corespunzătoare baleiajului se deplasează spre dreapta (potențiale mai negative) deoarece constanta de formare a complexului Cu(II) cu EDTA este mult mai mare decât cea a complexului cu amoniacul. La concentrații mai mici de EDTA apar două picuri, datorită coexistenței celor doi complecși.

Tehnica de baleiaj multiplu pe gradienti prezintă avantaje mari față de tehnica FIA obișnuită, prin faptul că oferă mult mai multă informație, fiind o tehnică foarte utilă pentru studii privind formarea complexelor, cinetica transferului de electroni, și altele.

Din punct de vedere pur analitic, metoda de baleiaj pe gradienti poate prezenta avantaje deosebite la analiza unor amestecuri multicomponente. Astfel, s-a realizat o cuplare a FIA cu spectrometria de emisie în plasmă cuplată inductiv [46 - 49]. Un spectru de emisie generat în torța de plasmă cuplată inductiv conține în mod curent un amestec de linii slabe și intense și care nu pot fi cuprinse toate în domeniul optim de măsură al detectorului, aspirând, așa cum se procedează de obicei, o singură soluție. Dacă însă proba este injectată într-un canal FIA atașat la torța de plasmă cuplată inductiv și zona probei dispersate este baleiată repetat, în timp ce trece prin torța de plasmă, toate liniile analiților prezenți în probă vor putea fi evaluate, indiferent de intensitatea lor.

4.5.7.3. Calibrarea cu gradienti

În fig. 4.60 se prezintă principiul acestei metode propuse de Ruzicka și colab. [41, 42].

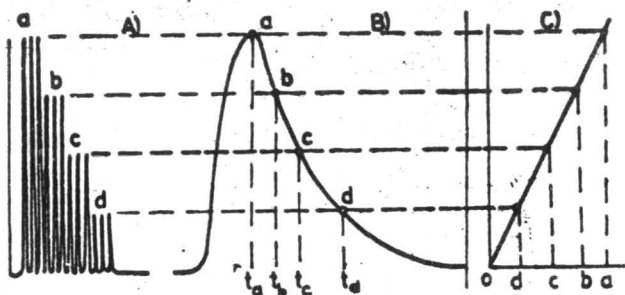


Fig. 4.60. Calibrarea cu gradienti. A) Semnale obținute la înregistrarea a patru standarde de concentrații descrescătoare (a-d) fiecare probă fiind injectată de trei ori. B) Înregistrare FIA pentru

proba cea mai concentrată (a) obținută la o viteză mare a hîrtiei înregistratoare. C) curbă de calibrare obținută din graficele B) și A), prin efectuarea măsurărilor la timpii t_a , t_b , t_c , t_d .

Această tehnică se mai numește și "calibrare electronică" și are la bază următoarele:

- trasarea unei curbe de calibrare prin injectarea unor probe de concentrație variabilă și măsurarea semnalului detectorului. Semnalul detectorului pentru o anumită concentrație a probei injectate este corelat cu timpul la care valoarea respectivă a semnalului apare pe porțiunea descrescătoare a picului probei celei mai concentrate,

- stabilirea unei relații între înălțimea h , timpul t și concentrația c a speciei de dozat în porțiunea descrescătoare a semnalului FIA. Această relație este înregistrată de computer.

Principalele avantaje ale metodei sînt:

- înregistrarea rapidă a unei curbe (sau drepte de calibrare) Timpul necesar este de 20 - 30 s,

- precizie mai mare decît cea obținută atunci cînd se verifică buna funcționare a aparatului injectînd o singură probă și făcînd măsurătoarea la maximul picului obținut, în acest caz ducînd de fapt dreapta de calibrare numai prin două puncte, originea și punctul corespunzător maximului picului,

- orice influență a reacțiilor chimice asupra calibrării inițiale cu probe standard va fi reflectată în curba obținută, injectînd o singură soluție standard și care va fi utilizată la calibrarea instrumentului.

Principalul dezavantaj al acestei metode îl constituie faptul că necesită utilizarea unui microcomputer pentru a colecta datele furnizate de detector și pentru a stabili timpii la care se vor obține anumite valori ale semnalului dat de o probă injectată. Datele obținute sînt folosite pentru a trasa dreapta de calibrare și de a o verifica prin injectarea unei singure probe de concentrație mare.

4.5.7.4. Tehnici FIA bazate pe stoparea curgerii cu gradienti

În cazul acestor tehnici fluxul transportor este stopat prin oprirea pompei la o anumită valoare a timpului, predeterminată cu precizie, astfel ca în celula în flux să se găsească o anumită porțiune a gradientului de concentrație realizat prin dispersia probei în flux. În acest mod se poate măsura formarea unui produs de reacție prin înregistrarea continuă a semnalului în flux stopat. După un anumit timp pompa este pornită din nou.

Utilizând această tehnică se pot aplica numeroase metode cinetice de dozare, într-un mod mult mai simplu și cu posibilități mai ușoare de modificare a diferiților parametri comparativ cu metodele manuale.

De obicei, oprirea fluxului se face atunci când în celula de măsură se găsește porțiunea descendentă a picului FIA și aceasta din următoarele motive principale :

- pe porțiunea ascendentă a picului valoarea semnalului crește foarte rapid, iar mici erori în stabilirea timpului la care se face oprirea fluxului vor afecta accentuat valoarea inițială a semnalului, care trebuie menținut constant,

- pe porțiunea ascendentă a picului, gradul de amestecare între reactiv (din fluxul purtător) și specia de dozat (din proba injectată) este mai redus comparativ cu porțiunea descendentă.

La efectuarea determinărilor pe porțiunea descendentă a picului FIA reproductibilitatea (și chiar sensibilitatea) determinărilor vor fi mai bune.

În fig. 4.61 se prezintă aspectul unor picuri FIA înregistrate în flux stopat.

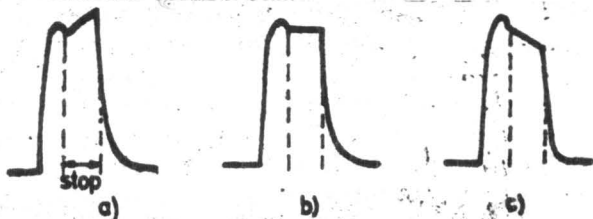


Fig.4.61 . Exemple de picuri FIA obținute prin stoparea curgerii pe gradienti. a) formarea unei noi specii ce este pusă în evidență de detector, b) nu are loc o reacție chimică în urma căreia să se formeze o nouă specie, c) specia formată se descompune în timp.

În fig. 4.62 se prezintă aspectul unor picuri FIA înregistrate în flux stopat și modul de trasare a unei curbe de calibrare, prin efectuarea măsurărilor la aceeași valoare a timpului.

În fig. 4.63 se prezintă aspectul înregistrărilor obținute la determinarea activității catalitice a lactat dehidrogenazei (LDF) aplicând metoda stopării fluxului pe gradienti.

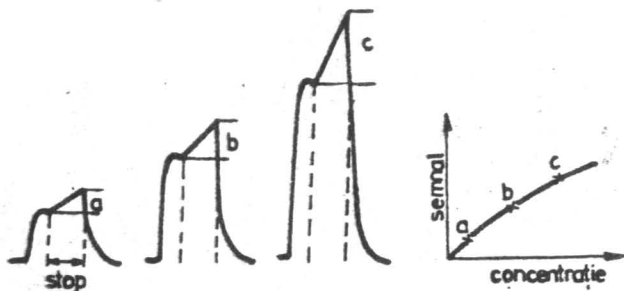


Fig. 4.62. Semnale FIA obținute prin stoparea curgerii pe gradient. Valorile a, b și c sînt utilizate pentru trasarea curbei de calibrare.

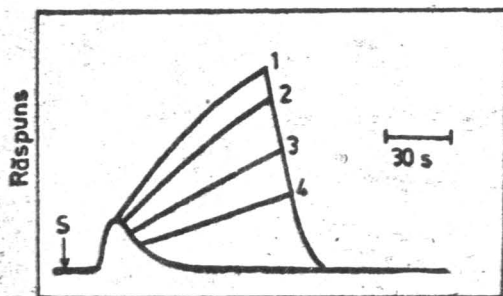


Fig. 4.63. Înregistrări obținute la determinarea activității catalitice a lactat dehidrogenazei aplicînd tehnica de stopare a fluxului pe gradient. Prin selectarea anumitor timpi la care se face stoparea fluxului în celula în flux pot fi oprite anumite secțiuni ale zonei dispersate, pentru care corespund curbele vitezelor de reacție 1-4.

Reacția enzimatică care are loc este următoarea:



unde NAD^+ este nicotinamidadenin dinucleotidul.

Viteza reacției enzimatică este determinată prin măsurarea spectrofotometrică a descreșterii concentrației NADH , în urma injectării într-un flux purtător ce conține substratul, a aceleiași soluții de LDH. Descreșterea pantei curbelor înregistrate de la 1 la 4 se datorește descreșterii raportului enzimă/substrat în diferitele secțiuni ale gradientului de concentrație.

Ținând seama de datele prezentate în fig. 5.21 se va putea alege foarte ușor raportul optim enzimă/ substrat pentru efectuarea determinărilor, raport care trebuie ales cu mare atenție pentru efectuarea unor determinări enzimatic corecte.

Metoda FIA bazată pe stoparea curgerii pe gradientii își găsește numeroase aplicații în biotehnologie și în chimia clinică. Metoda permite atât determinarea activității unor enzime, cât și determinarea concentrației unor substraturi utilizând o reacție enzimatică.

4.5.7.5. Titrații FIA bazate pe utilizarea unei camere de amestecare

Titrațiile FIA constituie cea mai veche aplicație a tehnicilor FIA cu gradientii.

În fig. 4.64.a se prezintă schema unui montaj prevăzut cu o cameră de amestecare utilizat la efectuarea unor titrații prin metoda FIA iar în fig. 4.64.b se prezintă forma semnalelor înregistrate.

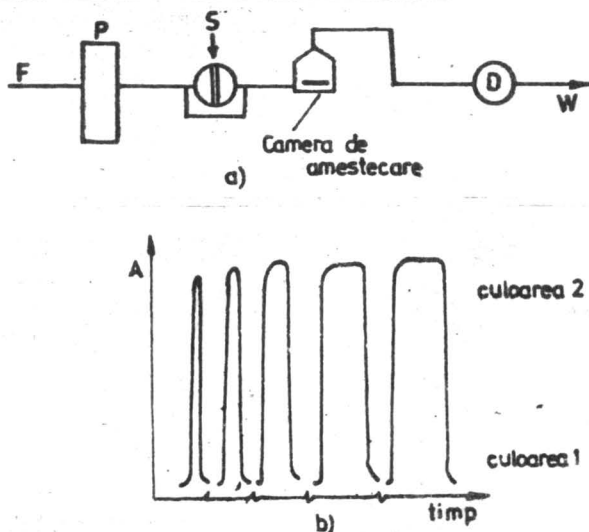


Fig. 4.64 .a) Montaj FIA utilizat la efectuarea unor titrații acido-bazice. F, flux transportor (în cazul nostru este o soluție de NaOH), S, proba de analizat (soluția de acid), D, spectrofotometru înre-

gistrator prevăzut cu o celulă în flux, W, rezidii.
b) aspectul semnalelor FIA înregistrate la injectarea unor soluții de acid de concentrații crescătoare.

Incorporarea într-un montaj FIA a unei camere de amestecare, plasată între valva de injectare și detector, are ca rezultat crearea unui gradient de concentrație foarte larg a zonei injectate. Aceasta face ca semnalul înregistrat să aibă o lățime neobișnuită în FIA. Pentru aceste sisteme parametrul de interes nu mai este înălțimea picului ci lățimea sa, care va fi corelată cu concentrația analitului.

Pentru a descrie prin relații matematice procesul de diluare al probei în fluxul transportor, însoțit sau nu de o reacție chimică, ce are loc prin inserarea unei camere de amestecare într-un montaj FIA s-au propus mai multe modele teoretice. Amintim dintre acestea modelul vaselor în serie [50] și modelul propus de Pardue și Fields [51,52].

Referindu-ne la fig. 4.64 este de menționat faptul că reacți-vul conține dizolvat într-o cantitate foarte mică un indicator acido-bazic, de exemplu albastru de bromtimol, care, prin virajul său, va pune în evidență două puncte de echivalență. Acestea se găsesc pe porțiunea crescătoare și descrescătoare a gradientului de concentrație format la dispersia probei de acid în fluxul de bază. În aceste puncte concentrația acidului este exact egală cu concentrația bazei, realizându-se astfel neutralizarea lor reciprocă. De o parte și de alta a lor va fi un exces de acid sau un exces de bază.

Mărind concentrația acidului din proba injectată are loc lățirea picului, lățimea sa putând fi măsurată și folosită la evaluarea concentrației inițiale a probei.

Picul prezentat în fig. 4.64.b nu reprezintă gradientul de concentrație real al probei. În realitate, gradientul de concentrație caracteristic probei există (fig. 4.65). Micșorarea înălțimii și schimbarea alurei corespunzătoare unui pic FIA caracteristic se datoresc indicatorului, care este trecut complet într-o anumită formă, înainte ca picul să ajungă la valoarea sa maximă. După maximul picului punctul la care indicatorul începe să-și schimbe culoarea revenind la cea inițială reprezintă începutul, ce poate fi înregistrat, a porțiunii descrescătoare a picului.

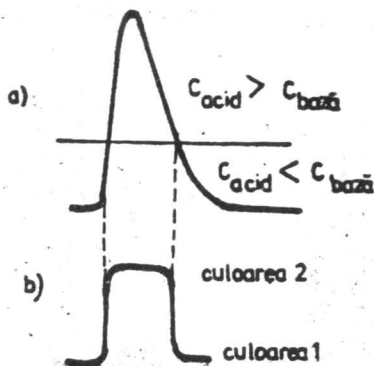


Fig. 4.65. a) Aspectul gradientului de concentrație format de proba injectată în cazul titrării FIA. b) Forma semnalului înregistrat.

Dacă pentru punerea în evidență a gradientului de concentrație al probei injectate se folosește un alt mijloc, de exemplu un electrod de sticlă, înregistrările obținute vor indica profilul real al concentrației probei injectate iar picul înregistrat va avea aspectul cunoscut.

În continuare vom deduce într-un mod simplificat relația dintre concentrația probei injectate și lățimea semnalului înregistrat (la o anumită înălțime a acestuia, corespunzătoare echivalenței). Să considerăm următorii termeni:

- C_A^S , concentrația HCl de analizat (ce este injectat în flux) (M)
- C_B^O , concentrația NaOH în flux, (M)
- Q , debitul fluxului ce circulă prin montajul FIA (mL/min)
- V_S , volumul probei injectate (mL)
- V_m , volumul camerei de amestecare (mL), $V_S \ll V_m$
- t_{sq} , timpul scurs între două viraje ale indicatorului,
- T , timpul mediu de existență în camera de amestecare a unei specii (s), $T = V_m/Q$
- C_A , concentrația acidului clorhidric ce părăsește camera de amestecare la timpul t , (M)
- C_A^O , concentrația maximă a HCl din camera de amestecare, (M).

În momentul în care proba injectată a pătruns și se găsește integral în camera de amestecare se consideră $t=0$. Dacă proba este amestecată omogen, atunci putem scrie:

$$C_A^O = V_S C_A^S / V_m \quad (4.36)$$

De asemenea, se consideră îndeplinite următoarele condiții:

- analitul și titrantul reacționează stoechiometric,
- soluția din camera de amestecare este tot timpul foarte bine amestecată (de obicei cu ajutorul unui mic agitator magnetic),
- amestecarea realizată este reproductibilă, astfel că gradientul de concentrație al probei va fi reproductibil.

În aceste condiții se poate scrie următoarea relație:

$$C_A / C_A^0 = e^{-t/T} \quad (4.37)$$

La timpul $t=0$, C_A este egal cu C_A^0 , ceea ce va determina virajul indicatorului, care trece de la culoarea corespunzătoare mediului bazic la culoarea corespunzătoare mediului acid. După un anumit timp, egal cu t_{eq} , va avea loc din nou virajul indicatorului de la forma acidă la forma bazică. Acest ultim viraj va avea loc pentru o anumită valoare a lui C_A , care nu depinde de concentrația inițială a acidului din camera de amestecare ci, pentru un anumit montaj FIA, cu anumite caracteristici bine definite, depinde numai de concentrația C_B^0 a fluxului de bază.

Valoarea C_A din camera de amestecare pentru care are loc virajul indicatorului, și deci se atinge condiția de echivalență dintre acid și bază, va fi notată cu $C_{A,eq}$. Introducând valorile t_{eq} și $C_{A,eq}$ în ecuația de mai sus, se obține:

$$C_{A,eq} / C_A^0 = e^{-t_{eq}/T} \quad (4.38)$$

logaritmand, obținem:

$$\begin{aligned} \ln C_{A,eq} - \ln C_A^0 &= -t_{eq}/T \\ t_{eq} &= T \ln C_A^0 - T \ln C_{A,eq} \end{aligned} \quad (4.39)$$

dar $T = V_m/Q$, $C_A^0 = V_S C_A^S / V_m$ și $C_{A,eq} = C_B^0$

$$\text{deci} \quad t_{eq} = V_m/Q \ln(C_A^S / C_B^0) + V_m/Q \ln(V_S / V_m) \quad (4.40)$$

sau, trecînd la logaritmi zecimali:

$$t_{eq} = V_m/Q \ln 10 \lg(C_A^S / C_B^0) + V_m/Q \ln 10 \lg(V_S / V_m) \quad (4.41)$$

Relația (4.41) este valabilă la titrarea unui acid monoprotic. La titrarea unor acizi poliprotici ce sînt disociați total în soluție, în relația de mai sus C_B^0 trebuie înlocuit cu nC_B^0 unde n reprezintă numărul de protoni puși în libertate prin ionizarea acidului.

Relația (4.41) a fost dedusă de Ruzicka și Hansen [53, 54] precum și de Pardue și Fields [51, 52].

Considerînd că pentru un anumit sistem FIA valorile V_m , Q , V_S și C_B sînt menținute constante, relația (4.41) poate fi scrisă într-o formă simplificată:

$$t_{eq} = k_1 \lg C_A^S + k_2 \quad (4.42)$$

Relația (4.42) ne indică faptul că se obține o dependență liniară între t_{eq} și logaritmul concentrației probei analizate. De fapt pentru un anumit montaj FIA această liniaritate se păstrează numai într-un anumit domeniu de concentrație a substanței titrate care trebuie, în principiu, stabilit experimental.

Titările FIA au la bază, în unele privințe, principiile titrimetriei clasice. Prin metoda FIA pot fi titrați acizi poliprotici cum ar fi acidul fosforic sau acidul carbonic și chiar amestecuri de acizi ce au valorile constantelor de aciditate suficient de diferite între ele.

Prin metoda FIA se pot efectua nu numai titrări acido-bazice ci și titrări redox, complexonometrice sau de precipitare.

Sînt anumite limitări, din punct de vedere practic, ale domeniului de concentrații în care pot fi efectuate aceste tipuri de titrări. O deplasare a acestui domeniu se poate realiza prin modificarea concentrației soluției titrante.

4.5.7.6. Titrări FIA fără cameră de amestecare

Pentru realizarea unui gradient de concentrație al substanței titrate în fluxul de reactiv, nu este însă absolut necesară prezența în montajul FIA a unei camere de amestecare.

Aceasta poate fi înlocuită cu un tub cu lungimea și diametrul adecvat în care se va crea un gradient de concentrație suficient de extins, astfel ca în cele două părți ale picului să se obțină două puncte cu valori ale dispersiei egale, iar distanța dintre acestea exprimată în unități de timp să poată fi corelată cu logaritmul concentrației substanței titrate.

Principiul acestei metode de a efectua titrări FIA a fost expus de Ruzicka și colab. [55].

Avantajele înlocuirii camerei de amestecare cu un tub în care are loc dispersia constau în: evitarea diluării prea mari a probei, însoțită de o micșorare a sensibilității determinărilor, micșorarea consumului de reactiv și mărirea apreciabilă a vitezei de efectuare a analizelor.

Cda 309/1992 Feb. 12

Aplicînd modelul "vaselor în serie", Ruzicka și colab. [56] au ajuns la concluzia că la înlocuirea camerei de amestecare cu un tub, procesul de dispersie poate fi tratat ca avînd loc într-o cameră de amestecare ipotetică, cu volumul V_m și care este dat de suma dintre volumul tubului în care are loc dispersia și o contribuție datorată probei injectate, ΔV .

$$V_m = V_r + \Delta V \quad (4.43)$$

S-a demonstrat că volumul ΔV , care poate fi atribuit operației de injectare este aproximativ $1/2$ din volumul probei injectate, V_S , deci punctul în care începe procesul fizic de dispersie al probei în fluxul de reactiv poate fi considerat în momentul injectării, la mijlocul zonei injectate.

Ruzicka și colab. [56] recomandă ca volumul tubului în care are loc dispersia să fie aproximativ egal cu ΔV ($V_r \approx V_S/2$) pentru a se obține coeficienții de dispersie ai probei de aproximativ 2. În această situație, măsurătorile se vor face pentru două valori ale coeficientului de dispersie pe gradientul de concentrație $D_1^E = D_2^E = 4$. Această recomandare este valabilă însă, numai pentru anumite condiții experimentale, și anume: tuburi scurte și concentrații ale soluțiilor relativ mici.

În aceste condiții se poate scrie:

$$D^E = C_A^O/C_A = C_B^O/(C_B^O - C_B); C_B = C_B^O(D^E - 1)/D^E \quad (4.44)$$

Relația (4.41) va deveni:

$$t_{eq} = (V_m/Q) \ln 10 \lg(C_A^S/C_B^O) + (V_m/Q) \ln 10 \lg(D^E/(D^E - 1)) \quad (4.45)$$

Pentru simplificare, s-a considerat că se titrează un acid monoprotic utilizînd o bază monoacidă, în caz contrar valorile concentrațiilor bazei se vor multiplica cu n , ce reprezintă numărul de protoni ai acidului ce vor reacționa cu baza.

O tratare detaliată a dispersiei într-un sistem constituit dintr-un singur vas, efectuată de Tyson [57] duce la o simplificare a ecuației pentru valori mici ale lui D^E . El a dedus următoarea ecuație:

$$t_{eq} = (V_m/Q) \ln 10 \lg(C_A^S/C_B^O) - (V_m/Q) \ln 10 \lg(D^E - 1) \quad (4.46)$$

Conforma acestei ecuații limita de detecție pentru un sistem cu o singură linie se obține atunci cînd este îndeplinită următoarea condiție:

$$C_A^S/C_B^O = D - 1$$

Ecuația de mai sus a fost prezentată într-un capitol anterior (ecuația 4.13)

În aceste condiții coeficienții de dispersie ai reactivului și al probei sînt egali cu 2, iar $t_{eq}=0$.

Sistemele de titrare FIA fără cameră de amestecare prezintă următoarele caracteristici:

- timpul de titrare, incluzînd operația de spălare, este foarte scurt, de la cîteva zecimi de secundă la 10-15 s,
- sensibilitatea determinărilor este mai mare decît cea obținută utilizînd o cameră de amestecare,
- volumul probei injectate este mai mic (zeci de μL) comparativ cu cel folosit la sistemele de titrare FIA cu cameră de amestecare.

4.5.7.7. Tehnici FIA bazate pe folosirea unor gradienti de pH

Aceste tehnici FIA [58, 59] se bazează pe formarea a doi gradienti de pH neliniari, la cele două interfețe flux transportor-probă, ce apar la injectarea unei probe de volum suficient de mare, cu o anumită valoare a pH-ului, într-un flux ce are o valoare a pH ului diferită de a probei. Ambii gradienti, în principiu de aceeași mărime dar de semn opus, depind de gradul de amestecare dintre zona injectată și fluxul purtător.

Să considerăm că proba injectată conține doi cationi ce pot forma complecși cu același ligand conținut în fluxul transportor. De asemenea, să considerăm că nu există o suprapunere completă între domeniile de pH în care se pot forma cei doi complecși. Să luăm cazul concret al complecșilor pe care îi formează 4-(2-piridil azo) rezorcinolul (PAR) cu ioni de V(V) și Pb(II). În fig. 4.66 se prezintă domeniile de pH în care se formează cei doi complecși.

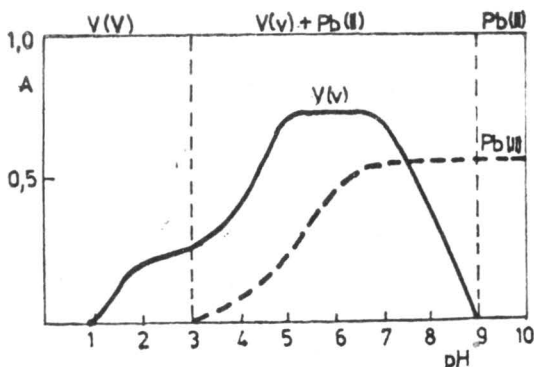


Fig. 4.66. Domeniile de pH în care se formează complecșii de V(V) și Pb(II) cu 4-(2-piridil-azo)rezorcinol.

Cei doi complecși pot fi determinați spectrofotometric prin măsurarea absorbției la 530 nm.

Betteridge și Fields [58] propun o metodă de determinare simultană a ionilor de $V(V)$ și $Pb(II)$ prin injectarea unei probe de analizat cu volumul de 125 μL și pH-ul cuprins între 2-3 într-un flux transportor ce conține 4-(2-piridil azo)-rezorcinol și are pH-ul de 9,9. Pentru efectuarea determinărilor s-a utilizat un montaj FIA simplu monocanal, iar detecția complexilor formați s-a făcut spectrofotometric prin măsurarea absorbției la 530 nm.

Datorită volumului mare al probei injectate, în centrul zonei în care se dispersează proba nu are loc practic o modificare a pH-ului, care se menține la o valoare de 2-3, condiții în care se formează numai complexul de $V(V)$ cu reactivul (conform datelor prezentate în fig. 4.66).

De o parte și de alta a porțiunii centrale a zonei injectate datorită gradientului de pH format va exista o valoare a pH-ului la care se va forma complexul reactivului cu $Pb(II)$; Ceea ce înregistrează spectrofotometrul constă de fapt din trei picuri contopite parțial, după cum se vede din fig. 4.67

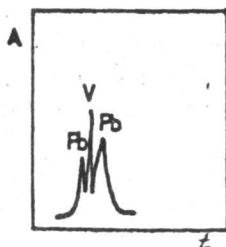


Fig. 4.67. Înregistrări obținute la determinarea simultană a $V(V)$ și $Pb(II)$ pe baza formării unui gradient dublu de pH la interfața probă, flux transportor.

Primul și al treilea pic corespund formării complexului de plumb cu reactivul studiat, la o valoare a pH-ului la care nu se formează complexul cu $V(V)$. Picul din centru corespunde numai complexului de $V(V)$. De notat că ultimul pic este mai înalt decât primul, datorită unei amestecări mai bune a reactivului cu proba de analizat. De asemenea, al treilea pic este mai larg decât primul datorită caracterului asimetric al picurilor înregistrate în FIA, porțiunea descendentă a acestora fiind mai lată decât cea ascendentă.

De fapt, cele trei picuri prezentate în fig. 4.67 aparțin unui singur pic FIA ipotetic obținut prin injectarea probei în flux, dar au putut fi evidențiate tocmai datorită gradientului de pH format.

4.5.8. Tehnici FIA bazate pe întâlnirea zonelor

Principiul acestor tehnici se bazează pe injectarea separată a reactivului și a probei de analizat în două fluxuri transportoare, dând naștere astfel la două zone, care apoi se vor amesteca în mod reproductibil. În zona comună formată se va detecta compusul de reacție (fig. 4.68).

Această tehnică a fost propusă pentru prima dată de Bergamin și colab. [60] și, independent de acesta, de către Mindegaard [62], cu scopul de a realiza o economie de reactiv și de probă.

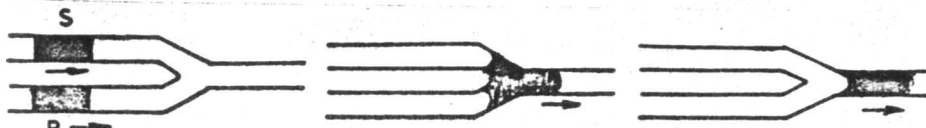


Fig. 4.68. Principiul tehnicii FIA bazate pe întâlnirea zonelor. S, probă, R, reactiv.

Aplicând această tehnică se folosește o cantitate de reactiv exact de cât este nevoie pentru fiecare determinare, lucru care este foarte important mai ales atunci când se utilizează reactivi scumpi. Fluxurile transportoare sînt constituite din soluții mult mai ieftine decît reactivii, sau chiar din apă distilată. În anumite condiții această tehnică prezintă în plus avantajul că fluxul transportor poate servi drept soluție de spălare (conținînd detergenți, substanțe complexante etc.) care curăță sistemul între determinări.

Sînt mai multe variante de montaje FIA pentru a realiza această tehnică bazată pe întâlnirea zonelor, și anume:

- 1) pompare intermitentă, utilizînd două pompe și o singură valvă de injectare, [61];

- 2) injectare multiplă sincronizată cu ajutorul unei valve multiple, ce este conectată la una sau două pompe peristaltice;

- 3) injectare multiplă sincronizată și pompare intermitentă.

Realizarea tehnicii bazate pe întâlnirea zonelor prin pompare intermitentă, al cărui principiu este prezentat în fig. 4.69 se poate realiza cu un montaj FIA ca cel din fig. 4.69.b.

Cele două pompe, I și II, se apar în montajul din fig. 4.69 .b funcționează alternativ. Mai întâi este pusă în funcțiune pompa I, care are rolul de a transporta proba din valva de injectare pînă la o anumită distanță de punctul de confluență cu reactivul. Apoi se oprește pompa I și se pornește pompa II, care realizează atît deplasarea zonei probei spre detector, cît și introducerea reactivului.

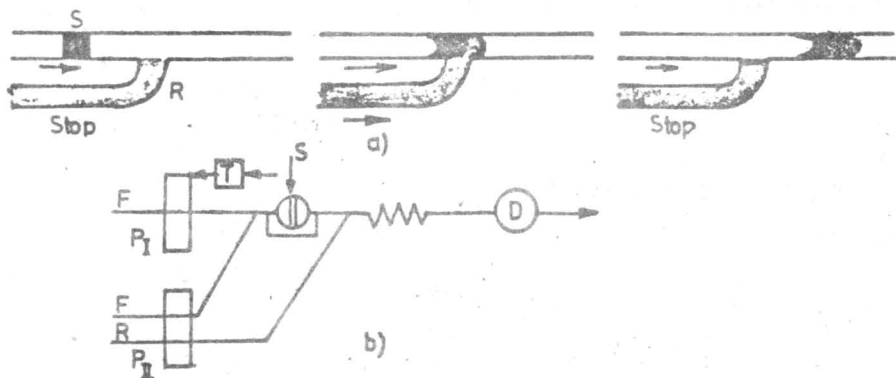


Fig. 4.69. a) Principiul realizării tehnicii bazate pe înțîlnirea zonelor prin pompare intermitentă și b) montajul FIA corespunzător. S, probă, R, reactiv, F, flux transportor; cele două pompe I și II funcționează alternativ. După injectarea probei, la un timp prestabilit, cu ajutorul dispozitivului T este oprită pompa I și pusă în funcțiune pompa II, cînd are loc atît transportul zonei probei cît și introducerea reactivului. După un timp predeterminat, atunci cînd zona probei a depășit punctul de confluență cu reactivul, se oprește pompa II și este pornită din nou pompa I.

Pompa II trebuie menținută în funcțiune pînă cînd întreaga zonă a probei a depășit punctul de confluență cu reactivul. În continuare, prin oprirea pompei II și pornirea pompei I, zona ce conține produsul de reacție este transportată spre reactor.

Injectarea multiplă sincronizată cu ajutorul unei valve multiple a fost folosită pentru prima dată de Zagatto și colab. [63].

În fig. 4.70 se prezintă principiul acestei tehnici transpusă în practică cu ajutorul unei valve duble propusă de Mindegaard [62].

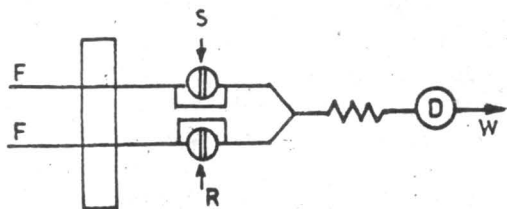


Fig. 4.70. Montaj FIA pentru întâlnirea sincronizată a două zone injectate. F, flux transportor, S, probă, R, reactiv.

Valva dublă prezentată în montajul din fig. 4.70 permite injectarea simultană a probei și reactivului în două tuburi separate. La punctul de confluență are loc amestecarea celor două zone.

Această tehnică a fost folosită în primul rând pentru economia de reactivi pe care o realizează, de exemplu într-o serie de studii imunologice [65-67], pentru determinarea albuminei [68], pentru determinări prin chemiluminiscență [69] etc.

Injectarea multiplă sincronizată și pomparea intermitentă este o variantă mai complexă a tehnicii FIA bazată pe întâlnirea zonelor.

În anumite situații, această tehnică combinată poate reduce dezavantajele celor două tehnici expuse anterior de realizare a întâlnirii zonelor.

4.5.9. Tehnici FIA bazate pe penetrarea zonelor

Aceste tehnici sînt asemănătoare cu cele bazate pe întâlnirea zonelor, cu deosebirea că nu se urmărește suprapunerea completă a celor două zone.

În cazul tehnicilor FIA bazate pe penetrarea zonelor are loc suprapunerea parțială a zonei reactivului cu zona probei de analizat, cînd se formează o zonă compusă, care ne poate furniza o multitudine de informații analitice.



Fig. 4.71. Principiul penetrării zonelor

În fig. 4.71 se prezintă principiul penetrării zonelor [70]. Formarea zonei compuse se datorește faptului că lichidul din partea centrală a tubului se deplasează cu o viteză de două ori mai mare decât viteza medie. Din acest motiv, atunci când într-un tub sînt injectate simultan la mică distanță, o zonă a reactivului și una a probei, va avea loc o penetrare reciprocă a zonelor. Aceasta va fi cu atît mai mare cu cît lungimea drumului parcurs este mai mare.

Din punct de vedere experimental, penetrarea zonelor se realizează în modul cel mai reproductibil prin folosirea unei valve cu buclă dublă de injectare, fluxul transportor fiind pus în mișcare de un singur canal al pompei peristaltice. Procedînd în acest mod, factorii principali care determină penetrarea zonelor, și anume: geometria valvei, distanța dintre cele două zone injectate și debitul de lichid, pot fi menținute constante pentru perioade de timp îndelungate. Nu același lucru s-ar putea realiza dacă se lucrează cu două fluxuri de lichid în care se injectează separat zona probei și zona reactivului.

Gradientul de concentrație al zonei compuse, format prin penetrarea a două zone de concentrație inițială C_A^0 și C_B^0 , poate fi valorificat din punct de vedere analitic prin obținerea de informații utile din secțiuni ale zonei în care cele două specii prezintă coeficienți de dispersie bine definiți (fig. 4.72).

Coeficienții de dispersie D_A și D_B pentru fiecare zonă vor avea o anumită valoare, determinată de timpul scurs de la injectarea probei, t . Din acest motiv, valorile raportului D_A/D_B vor rămîne constante pentru o anumită valoare a timpului, t_x .

Ținînd seama de această proprietate a procesului de dispersie, au fost propuse următoarele metode:

a) Metodă de determinare a coeficientului de selectivitate [71] prin care se poate aprecia gradul de interferență al unor specii străine în cazul unei anumite metode analitice.

b) Metodă de realizare a adițiilor standard pentru un domeniu larg, controlabil al raportului de concentrație, soluție standard/soluție de analizat [72].

4.5.9.1. Determinarea coeficienților de selectivitate

Notînd concentrația unei specii de analizat cu C_A , concentrația unei specii interferente cu C_B și concentrația aparentă a speciei A, determinată în prezenta speciei B, cu C_A' atunci se poate scrie relația:

$$C'_A = C_A + k_{AB} C_B \quad (4.47)$$

unde k_{AB} este coeficientul de selectivitate (al determinării speciei A în prezența speciei B).

Dacă concentrația fiecărei specii este corelată cu concentrația probelor inițiale injectate C^0 prin valorile coeficienților de dispersie atunci se poate scrie:

$$D_A = C_A^0/C_A \quad \text{și} \quad D_B = C_B^0/C_B$$

Dacă se consideră că răspunsul detectorului este funcție liniară de concentrație, iar toate determinările FIA sînt făcute pentru valori egale ale dispersiei celor două specii ($D_A = D_B$) atunci se poate calcula valoarea coeficientului de selectivitate, care este dat de relația:

$$k_{AB} = (C_A^0/C_B^0) \left[(H_{A+B}/H_A) - 1 \right] \quad (4.48)$$

unde H_A și H_{A+B} sînt înălțimile înregistrate de detector pentru injectarea probei A singure și, respectiv, a speciei A plus specia interferentă B.

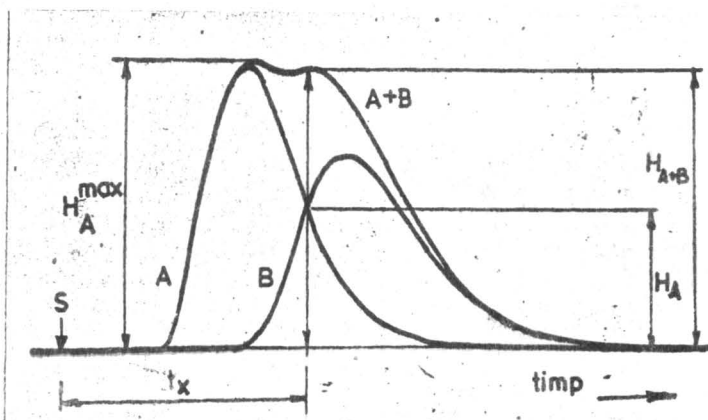


Fig. 4.72. Penetrarea zonelor. Profilul de concentrație a zonelor individuale A și B și a zonei compuse A+B. t_x este valoarea timpului scurs de la injectare, pentru care $D_A = D_B$. Valoarea H_{A+B} pe curba compusă în comparație cu valoarea H_A ne indică interferența speciei B la determinarea speciei A.

Coefficientul de selectivitate k_{AB} poate avea fie valori pozitive, fie negative, în funcție de modul în care specia B își manifestă interferența, prin mărirea semnalului înregistrat, sau prin micșorarea acestuia.

Poziția punctului x pentru care cele două zone injectate prezintă izodispersie se poate stabili ușor prin injectarea separată mai întâi a speciei A, urmată de înregistrarea semnalului. Apoi se injectează aceeași specie A cu valva de injectare corespunzătoare speciei B și se înregistrează semnalul obținut. Punctul de intersecție al celor două picuri corespunde izodispersiei celor două zone (timpul are valoarea t_x).

S-au propus mai multe scheme pentru montajele FIA utilizate la determinarea coeficienților de selectivitate, prin penetrarea zonelor. Se poate folosi un montaj cu două valve ce sînt plasate pe două canale independente și care sînt acționate simultan, injectînd cîte o zonă din specia A și specia B (fig.4.73 .a). Cele două zone parcurg drumuri de lungimi diferite strict controlate, pînă la punctul de confluență, ceea ce permite realizarea într-un mod reproductibil a penetrării zonelor. Acest montaj prezintă dezavantajul că debitele celor două fluxuri trebuie menținute riguros constante pentru întreaga serie de determinări, ceea ce poate fi dificil de realizat.

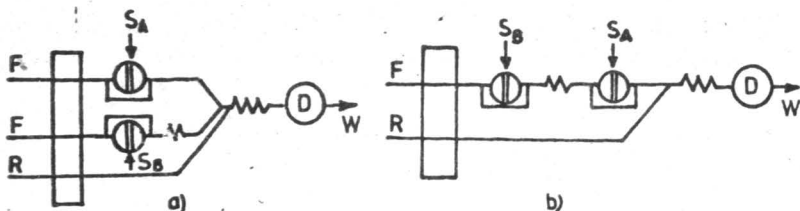


Fig. 4.73. Montaje FIA pentru studii bazate pe penetrarea zonelor. a) montaj cu două canale și cîte o valvă pe fiecare canal, b) montaj cu un singur canal și două valve plasate în serie. F, flux transportor, R, reactiv, W, rezidii, S_A și S_B soluțiile ce conțin speciile A și B.

mai avantajos este de a se utiliza montajul din fig. 4.73.b, care constă din două valve plasate pe o singură linie. Mici fluctuații în debitul de lichid furnizat de pompa peristaltică au același efect asupra dispersiilor probelor S_A și S_B , iar erorile ce pot apare sînt mici.

4.5.9.2. Aplicarea metodei adițiilor standard

Toate cele expuse pînă în prezent privind penetrarea zonelor, precum și montajele utilizate își păstrează valabilitatea și în cazul aplicării metodei adițiilor standard.

Zona A corespunde unei zone de concentrație necunoscută din specia de analizat, iar zona B corespunde unei soluții standard din specia de analizat.

Prin penetrarea celor două zone se obține o zonă compusă care poate fi interpretată, fie prin efectuarea de măsurători la punctul de izodispersie X, fie prin efectuarea de măsurători în orice alt punct din zona de suprapunere a celor doi gradienti, cu condiția ca raportul coeficienților de dispersie pentru punctul respectiv să fie cunoscut.

Pentru primul caz se aplică formula (4.48) luînd în considerare valoarea coeficientului de selectivitate k_{AB} care, în acest caz, este 1. Pentru a utiliza cea de a doua metodă este mai întîi necesar să determinăm raportul coeficienților de dispersie în punctul în care se fac determinările.

O metodă a adițiilor standard simplă, bazată pe o singură injectare pentru fiecare determinare, a fost propusă de Pang și colaboratorii [72]. Deși metoda a fost utilizată în combinație cu tehnica de baleiere pe gradienti pentru analiza simultană a mai multor elemente prin metoda flamfotometrică, ea poate fi aplicată cu rezultate foarte bune pentru analiza unui singur element sau a mai multor elemente prin absorbție atomică. Schema montajului utilizat la aplicarea metodei adițiilor standard este prezentată în fig. 4.74.

La injectarea unei probe cu ajutorul montajului prezentat în fig. 4.74 (prin deplasarea în jos a părții din dreapta a valvei de injectare) porțiunea din flux ce ajunge prima la detector va fi constituită din apă distilată, va urma apoi proba, iar în final o soluție standard de concentrație cunoscută a substanței de analizat. Montajul FIA este astfel conceput, încît să se obțină o valoare mică a coeficientului de dispersie, tinzînd spre 1, pentru a fi siguri că nu va apare nici o suprapunere a celor două fluxuri transportoare, apa distilată la început, apoi soluția etalon.

Pă porțiunea descreșcătoare a gradientului de concentrație al probei, fiecărui punct îi va corespunde un anumit raport al concentrațiilor probă/reactiv. Valorile acestor raporturi, ce corespund unor anumite valori ale timpului scurs de la injectarea probei, pot fi ușor determinate din măsurători de dispersie. Prin selectarea unei valori a timpului scurs de la injectarea probei, t_2 (sau a mai multor valori în domeniul de timp optim), se poate alege un raport optim

(sau mai multe raporturi în limitele domeniului optim) probă/standard pentru efectuarea măsurătorilor la fiecare injecție.

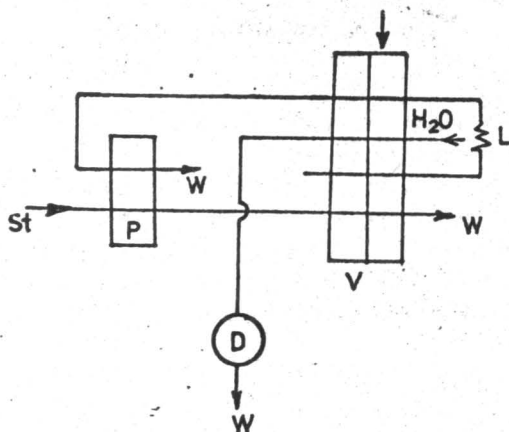


Fig. 4.74. Schema montajului FIA pentru aplicarea metodei adițiilor standard cu o singură injecție. V, valvă de injecție prin translație, L, bucla pentru probă D, detector (flamfotometru, spectrofotometru de absorbție atomică), S, probă, St, soluție standard, W, rezidii.

Pentru fiecare valoare t_2 se poate determina o valoare corespunzătoare t_1 pe gradientul crescător de concentrație al picului probei, care reprezintă un punct ce are aceeași dispersie ca punctul la t_2 , dar fără prezența standardului (fig. 4.75).

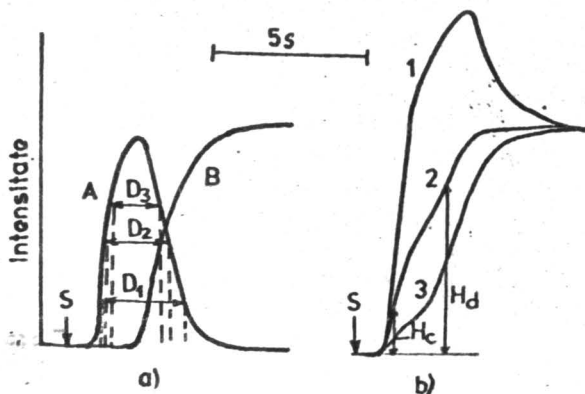


Fig. 4.75. a) Inregistrări ale intensității semnalului în

funcție de timp pentru o soluție standard de calciu cu volumul de $100 \mu\text{L}$, de concentrație $80 \mu\text{g/mL}$, folosind apa drept flux transportor, pentru a studia dispersia zonei probei, A. Liniiile punctate indică valorile timpului și ale dispersiei pentru care se obțin valori egale pe porțiunea crescătoare și descrescătoare a picului corespunzător probei, B reprezintă înregistrarea obținută la folosirea aceleiași soluții standard drept flux transportor, în loc de proba A fiind injectată apă distilată. D_1 , D_2 și D_3 , coeficienții de dispersie în puncte cu aceeași dispersie.

b) Înregistrări obținute la injectarea unor extracte de sol cu volumul de $100 \mu\text{L}$ folosind o soluție de calciu de concentrație de $80 \mu\text{g/mL}$ drept flux transportor. 1, 2, 3 corespund unor probe de sol de concentrații diferite de calciu; H_c corespunde înălțimii pe porțiunea crescătoare a picului, iar H_d pe porțiunea descrescătoare.

Dacă între semnalul măsurat și concentrație este o dependență liniară, atunci între concentrația probei C_s și înălțimea punctului t_1 , notată cu H_c și a punctului t_2 , notată cu H_d va fi relația:

$$C_s = k \frac{H_c}{H_d - H_c} \quad (4.49)$$

pentru o anumită valoare a coeficientului de dispersie al probei D_s și o anumită concentrație a standardului C_{st} , k este o constantă dată de relația:

$$k = C_{st} \frac{1-d}{d} \quad (4.50)$$

unde $d=1/D_s$

Metoda a fost aplicată cu succes pentru determinarea flamfotometrică a calciului în extracte de sol, dar potențialul său poate fi exploatat pe deplin numai dacă este utilizată cu un sistem spectro-metric multicanal cu baleiaj rapid.

4.5.10. Tehnici FIA bazate pe procese de separare

Cu toate realizările deosebite obținute în domeniul măririi sensibilității și selectivității metodelor analitice, totuși, adeseori este necesară efectuarea unor separări sau concentrări prin tehnici convenționale, cum ar fi: distilarea, precipitarea, extracția cu solvenți, schimbul ionic, dializa și difuzia prin membrane, pentru a elimina interferențele unor specii chimice însoțitoare și/sau de a mări sensibilitatea determinărilor.

Metodele manuale de separare și preconcentrare sînt de obicei foarte laborioase, consumă cantități mari de probă și reactivi și sînt susceptibile la contaminare cu impurități. Foarte frecvent etapa de separare și preconcentrare este etapa cea mai lentă într-un proces analitic. Aceasta explică interesul care se acordă metodelor de efectuare "in line" a unor separări și concentrări, metoda de analiză prin injectare în flux permițînd executarea cu mare eficiență a unor astfel de procese analitice.

4.5.10.1. Separări prin extracție cu solvenți

Karlberg și colab. [73] și Bergamin și colab [74] au fost primii care au demonstrat aplicabilitatea extracției cu solvenți în cazul metodei FIA.

În fig. 4.75 se prezintă schema unui montaj FIA utilizat la efectuarea de separări prin extracție cu solvenți.

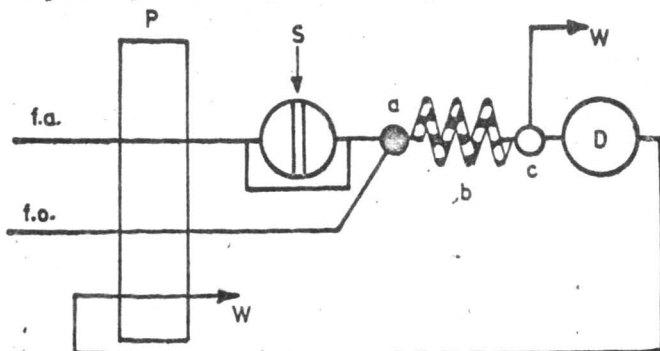


Fig. 4.75. Schema unui montaj FIA utilizat la efectuarea de separări prin extracție cu solvenți. a) unitate de segmentare, b) buclă de extracție, c) unitate de separare, f.a., faza apoasă, f.o., faza organică, P, pompă peristaltică, D, detector, W, rezidii.

Pentru efectuarea extracției cu solvenți într-un montaj FIA sînt necesare trei unități de bază, și anume: a) o unitate de segmentare, care este de fapt un punct de confluență în care vin în contact cele două fluxuri, apos și organic și care are rolul de a obține segmente egale, alternante din două lichide nemiscibile, într-un tub de diametru mic, b) o buclă de extracție în care are loc transferul analitului dintr-o fază în alta, c) o unitate de separare, care are rolul de a separa în mod continuu fluxul segmentat în două fluxuri paralele, dintre care cel puțin unul conține o fază pură.

Funcționarea corectă a unităților de separare și segmentare este esențială pentru efectuarea cu rezultate bune a separării.

În capitolul 4.4.3.3s-a prezentat schema unei unități de segmentare (fig. 4.35.a) și a două tipuri de unități de separare (fig. 4.35.b și fig. 4.36). Efectuarea de separări prin extracție cu solvenți se poate face utilizînd o celulă asemănătoare cu cea folosită la separări prin dializă, (fig. 4.34), însă randamentul extracției în acest caz este mai mic.

Pentru unitatea de segmentare sînt două variabile importante care trebuie controlate: reproductibilitatea segmentării și mărimea segmentelor obținute. Mărimea segmentelor nu afectează eficiența extracției în cazul unor procese de extracție ce decurg cu viteză mare, dar poate duce la o micșorare a acesteia în cazul unui proces de extracție lent. Influența acestui factor a fost discutată în mai multe articole [75-77].

Pentru a se realiza extracția analitului este necesar ca fluxul segmentat constituit din cele două faze nemiscibile să rămînă în contact pînă cînd analitul se apropie de o stare de echilibru termodinamic prin distribuția sa între cele două faze. Acest proces are loc în timp ce fluxul segmentat circulă prin bucla de extracție.

Bucla de extracție poate influența atât dispersia probei cît și eficiența extracției. La construirea unei bucle de extracție trebuie luați în considerare doi factori, și anume: materialul din care este construită și lungimea acesteia.

Alegerea materialului este funcție de natura fazei din care se face extracția. Dacă extracția se face dintr-o fază apoasă într-o fază organică, cel mai indicat material este teflonul. Dacă extracția se face dintr-o fază organică într-o fază apoasă, cel mai indicat material este sticla sau oțelul inoxidabil.

Acest lucru poate fi explicat ținînd seama de dispunerea în interiorul tubului a celor două faze ce circulă prin bucla de

extracție (fig. 4.76).

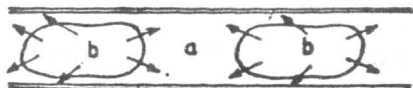


Fig. 4.76. Reprezentarea schematică a două faze nemiscibile "a" și "b" care circulă printr-o buclă de extracție. Săgețile indică direcțiile de deplasare ale solutului care se transferă din faza "b" în faza "a"

Faza "a" (fig.4.76) umezează pereții tubului, în timp ce faza "b", distribuită sub forma unor segmente la distanțe egale este înconjurată complet de faza "a". Atunci când tubul în care se face extracția este din teflon, faza "a" este faza organică, iar dacă este de sticlă, faza "a" va fi faza apoasă. După cum arată Shelly și colab. [78], pentru a micșora dispersia probei în cursul procesului de extracție, este indicat de a alege astfel materialul din care este construit tubul de extracție, ca analitul să fie inițial conținut în faza "b". Dacă extracția se face din faza "b", există posibilitatea ca moleculele analitului să se poată deplasa liber în cadrul picăturii de lichid spre interfața fazelor. Această deplasare este favorizată atunci când apar curenți secundari de lichid, ce se formează în cadrul fiecărei picături de fază "b" în urma curgerii lichidului prin bucla de extracție.

Nord și Karlberg [79, 80] au pus la punct o tehnică fotografică cu ajutorul căreia au demonstrat că solvenții organici formează un film pe suprafața interioară a buclilor de extracție construite din tuburi de teflon. Pentru un sistem de extracție pentanol/apă, grosimea filmului este de ordinul 0,03 mm la o viteză liniară a fluxului de 5 cm/s. Grosimea filmului crește liniar cu viteza de deplasare a fluxului de solvent. Grosimea filmului depinde de vâscozitatea, η și tensiunea interfacială, γ , a solventului. Cu cât raportul η/γ este mai mic, cu atât solventul va forma un film mai subțire. Formarea și proprietățile acestui film sînt esențiale pentru realizarea procesului de extracție.

Viteza globală a procesului de extracție este determinată în cea mai mare măsură de mărimea suprafeței fazelor, raportată la unitatea de volum [81, 82].

Audunsson [83] a descris un sistem de extracție interesant în care extracția lichid-lichid se face prin intermediul unei mem-

brane lichide fixate într-un modul de dializă. Membrana lichidă este obținută prin impregnarea unei membrane hidrofobe cu un solvent organic. Acest mod de a efectua extracția permite trecerea unui analit dintr-un flux apos donor într-un flux apos acceptor. Dacă fluxul acceptor este stopat de o parte a membranei, în timp ce soluția probei circulă pentru un anumit timp de cealaltă parte a membranei, se poate realiza o preconcentrare și purificare apreciabilă a unui analit.

Efectuarea extracției cu solvenți prin metoda FIA, comparativ cu metoda manuală, prezintă în primul rând avantajul rapidității dar, în plus, are avantajul că este mult mai economică (se utilizează cantități foarte mici de solvent organic) de asemenea, în atmosfera de laborator nu apar vapori ai solventului organic (sistemul FIA fiind închis) iar pericolul ce apare la lucrul cu solvenți inflamabili este mult diminuat (deoarece volumul de solvent este mic, mai puțin de 1 mL pentru o determinare).

În tabelul 4.3 se prezintă succint câteva din metodele FIA bazate pe folosirea extracției cu solvenți, numărul lor fiind de fapt mult mai mare. Aplicații deosebite și-a găsit această metodă în industria farmaceutică.

Tabelul 4.3

Metode de analiză FIA bazate pe folosirea extracției cu solvenți

Specia determinată	Principiul metodei	Faza org.	Detecția	Bibl.
Vitamina B ₁	Oxidare la tioerom	Cloroform	Fluor.	84
Codeină în tablete de acid acetic salicilic	Formare de perechi ionice	"	Potom.	85
Clorhidrat de fenilefrină și maleat de feniramină din spray nazal	Determinare directă în u.v.	"	"	86
Detergenți anionici	Formare de perechi ionice cu coloranți cationici	Metilizo-butilcetonă Dicloretan	"	87, 88
orto-fosfat	Formare de perechi ionice între molibdofosfat și verde de malachit	benzen/4-metil-pentan-2-onă	"	89
Clorhidrat de prociclidină în tablete	Pereche ionică cu ionul picrat	Cloroform	"	90
Galiu (III)	cu lumogallion	Alcool izoamilic	Fluor.	91

4.5.10.2. Separări prin difuzie gazoasă

Trecerea prin difuzie a substanței de analizat în stare gazoasă dintr-un flux donor, într-un flux acceptor, printr-o membrană permeabilă, constituie o metodă foarte selectivă de separare, care poate fi adaptată cu foarte bune rezultate la FIA.

Pentru executarea acestui tip de separări, în montajul FIA se introduce un modul a cărui schemă de principiu este prezentată în fig. 4.33. Prima metodă FIA bazată pe acest tip de separare a fost propusă în anul 1979 [92] pentru determinarea CO_2 în plasmă. Pentru difuzia CO_2 s-a folosit o membrană neporoasă de cauciuc dimetilsiliconic. Ulterior s-a constatat că mai adecvate pentru executarea unor astfel de separări sînt membranele microporoase din materiale hidrofobe inerte, cum ar fi teflonul sau polipropilenă izotactică, utilizabile pentru un mare număr de tipuri de gaze.

Selectivitatea separării unor specii prin difuzie gazoasă dintr-un flux donor într-un flux acceptor, poate fi mărită în funcție de condițiile de lucru alese. Dacă membrana folosită este hidrofobă, soluția apoasă nu va umezta suprafața membranei, ceea ce va face ca numai speciile în stare gazoasă să treacă prin membrană, în timp ce speciile ionice vor fi excluse. De asemenea, orice efect de matrice datorat culorii proprii a probelor de analizat va fi eliminat. În plus, este de menționat și faptul că numai puține specii sînt suficient de volatile la temperatura camerei, ceea ce constituie un factor ce mărește selectivitatea separărilor de acest tip.

Un alt avantaj al acestei metode de separare este și acela că domeniul dinamic pentru o metodă de dozare poate fi ușor modificat, prin modificarea compoziției fluxului acceptor. Astfel, utilizînd un flux alcalin, Karlberg și colab. [93] au reușit determinarea amoniacului cu o mare reproductibilitate la concentrații mici, de 50 ppb, de asemenea s-a reușit determinarea trimetilaminei în extractele de pește, cu o limită de detecție de 0,03 mg trimetilamină la 100 mL. Interferențele amoniacului și dimetilaminei au fost eliminate prin mascarea acestor specii cu glutaraldehida.

Din fluxuri acide speciile CO_2 , SO_2 , HCN , HF etc. vor fi emanate în cantități detectabile, în funcție de pH-ul fluxului donor.

Prin alegerea unor anumite valori de pH pentru fluxul donor se poate realiza un anumit grad de separare al acestor specii, datorită diferențelor între valorile constantelor de aciditate.

Utilizînd separarea cu ajutorul unei membrane poroase se poate determina prin tehnica FIA cu rezultate foarte bune dioxidul de sulf prin metoda West și Gaeke [93, 95]. Deși viteza reacției de formare a produsului colorat este mică și reacția nu ajunge la echilibru datorită timpului foarte scurt cît durează o analiză FIA, totuși rezultatele obținute sînt corecte, deoarece atît probele cît și etaloanele sînt prelucrate absolut la fel.

Un alt factor ce poate fi exploatat în vederea măririi selectivității separărilor de acest tip este cel al diferențelor în ceea ce privește viteza de difuzie prin membrană a diferitelor gaze. Acest lucru poate fi exemplificat prin rezultatele obținute de Hollowell și colab. [96] la determinarea ClO_2 și Cl_2 din ape. Cele două gaze au fost separate din probele de analizat utilizînd o membrană de teflon iar apoi ClO_2 a fost determinat foarte selectiv printr-o reacție de chemiluminiscență cu luminol. Limita de detecție pentru ClO_2 este de 5 ppb, iar metoda este de peste 1500 de ori mai selectivă pentru ClO_2 decît pentru Cl_2 .

Membranele microporoase de teflon au fost utilizate și pentru separarea selectivă a unor hidruri generate în mediu de reacție de exemplu AsH_3 , determinarea făcîndu-se în continuare prin absorbție atomică [97, 98] sau prin spectrometrie de emisie în plasmă cuplată inductiv.

Separarea prin difuzie gazoasă a hidrurilor generate în mediu de reacție, imediat după formarea lor, mărește mult selectivitatea determinărilor analitice, reducînd apreciabil interferența datorită metalelor tranziționale. Metalele tranziționale precipită în timpul generării hidrurilor și absorb hidrurile la suprafața precipitatului, micșorînd mult sensibilitatea determinărilor, acest proces de absorbție este cu atît mai pronunțat cu cît timpul de contact este mai lung. Separarea "in line" prin difuzie gazoasă a hidrurii reduce apreciabil timpul de contact și implicit interferența datorită metalelor grele.

4.5.10.3. Separări prin dializă

Separările prin dializă se realizează prin incorporarea într-un montaj FIA a unei unități de dializă a cărei schemă este prezentată în fig. 4.34. În acest caz, spre deosebire de separările prin difuzie gazoasă, unde se întrebuintează o membrană microporoasă hidrofobă, se folosește o membrană hidrofilă (cum ar fi o membrană de acetat de celuloză sau nitrat de celuloză). Introducerea unei unități de dializă într-un montaj FIA se face cu scopul de a realiza unul din următoarele obiective:

- a) separarea analitului de alți constituenți ai probei de analizat,
 - b) un mijloc exact și reproductibil de a efectua diluarea unei probe,
 - c) efectuarea unei microfiltrări în mod continuu prin transferarea unei specii dintr-un flux (donor) în alt flux (acceptor).
- Prima aplicare a unor separări prin dializă în FIA este cea prezentată de Hansen și Ruzicka [100] pentru determinări de fosfați anorganici și de cloruri din ser.
- De obicei, dializa se utilizează atunci când se dorește separarea speciilor de analizat dintr-o matrice complexă, cum ar fi ser [101-105] sau sînge [106, 107]. Moleculele cu masă moleculară suficient de mică vor difuza prin membrană putîndu-se astfel realiza separarea lor de macromolecule, cum ar fi proteinele.

Gordon și colab. [108] descriu o metodă de determinare a glucozei și ureei din ser în care se face mai întîi o separare preliminară a celor două specii prin dializă. După efectuarea separării, glucoza este convertită la acid gluconic și apă oxigenată iar ureea la amoniac, trecînd prin fluxurile respective printr-un reaktor ce conține glucozoxidază, respectiv urează imobilizate. Apa oxigenată rezultată este determinată fotometric, după descompunerea sa într-un al doilea reaktor ce conține peroxidază, pe baza reacției cu 4-aminofenazonă și N,N-dimetilanilină, iar amoniacul este determinat cu un electrod cu membrană permeabilă pentru gaze. Curbele de calibrare sînt liniare pentru glucoză în domeniul $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ M} - 1,6 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ și pentru uree în domeniul $10^{-4} - 10^{-1} \text{ M}$.

Van Staden și colab. [109], în urma unui studiu efectuat asupra a opt tipuri de membrane pentru dializă, prezintă influența a numeroși parametri de lucru asupra determinării ionilor Ca^{2+} și Cl^- separați prin dializă.

Separarea prin dializă a unor specii, urmată de determinarea lor prin metoda FIA a fost utilizată cu bune rezultate pentru determinări in vivo a unor specii implicate în procese neurochimice. Astfel, s-a realizat o cîmplare a dializei intracerebrale cu FIA pentru determinarea acidului lactic, [110]. Acidul lactic separat prin dializă a fost determinat prin măsurarea fluorimetrică a NADH rezultat în urma reacției enzimatie:



Răspunsul rapid al sistemului de analiză, 40 s, permite determinarea în timp real a variațiilor în metabolismul anaerobic al unui șoarece.

Pentru a studia legarea medicamentelor la proteine, Macheras și colab. [111] propun o așa numită tehnică de dializă "dinamică".

În cadrul acestei tehnici, partea acceptoare a unei unități de dializă constituie bucla probei din valva de injectare (fig. 4.77). Prin pomparea soluției ce conține medicamentul și proteina, o anumită perioadă de timp prin partea donoare a unității de dializă, se realizează o concentrare a medicamentului în partea acceptoare, din care poate fi apoi determinat.

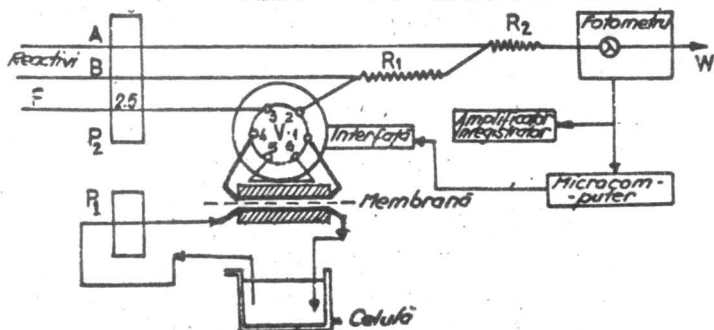


Fig. 4.77. Schema sistemului de analiză prin injectare în flux cu dializă dinamică în serie. Partea acceptoare a unității de dializă constituie bucla de injectare a unei valve, V. P_1 și P_2 , pompe peristaltice, F, flux transportor, R_1 și R_2 , bucle de reacție, W, rezidii.

Folosirea unei membrane constituită dintr-un schimbător de cationi a fost utilizată pentru concentrarea prin dializă Donnan a unor specii cationice [112]. Se realizează astfel o concentrare de peste 100 de ori. Bucla de injectare este în acest caz un tub construit dintr-o membrană schimbătoare de cationi care este introdusă în soluția probei de analizat. Determinările se fac prin spectrofotometrie de absorbție atomică.

Cuplarea separărilor prin dializă cu tehnica FIA își găsește aplicații deosebite și în controlul unor procese biotehnologice [113-115]. Probele de analizat în acest caz conțin de obicei particule în suspensie care ar înfunda canalele dispozitivului FIA, dializa fiind o metodă adecvată pentru purificarea acestora.

4.5.11. Tehnici FIA bazate pe pretratarea probelor în reactori cu umplutură

Reactorii cu umplutură sînt introduși într-un montaj FIA cu scopul de a efectua anumite prelucrări ale probelor, care au rolul de a ușura determinarea speciilor de analizat.

Drept materiale de umplutură s-au folosit:

- schimbători de ioni, cu scopul de a preconcentra specia de analizat, de a îndepărta componentele matricei care pot interfera sau de a trece un constituent al probei într-o specie care poate fi apoi detectată,

- enzime imobilizate, pentru degradarea selectivă a unor substraturi,

- oxidanți sau reducători care, fie acționează direct asupra speciilor de analizat, fie generează reactivi în stare născîndă care vor reacționa ulterior cu speciile de analizat.

Sînt de menționat reactorii a căror umplutură are rolul de a converti, în urma unei reacții chimice, o specie de analizat mai greu detectabilă, într-o specie ușor detectabilă.

4.5.11.1. Reactori cu schimbători de ioni sau cu materiale de umplutură care convertesc unul sau mai mulți constituenți ai probei în specii ușor detectabile

Reactorii cu schimbători de ioni au fost folosiți inițial pentru a mări sensibilitatea determinării unor specii cationice prezente în concentrații foarte mici în probe apoase [116]. Detecția s-a făcut prin spectrofotometrie de absorbție atomică. Fiecare ciclu de analiză constă din două operații separate: preconcentrarea și eluția. Se poate întrebuiți un montaj ca cel prezentat în fig. 4.78.

La început, cu ajutorul valvei V_1 se injectează un volum mare din soluția de analizat (5 mL) într-un flux care transportă proba de analizat prin coloana cu schimbători de ioni. Apoi, cu ajutorul valvei V_2 se introduce în flux un volum mic din soluția unui eluant (50 μ L) care îndepărtează specia reținută pe schimbătorul de ioni, realizîndu-se o concentrare de 100 de ori a speciei de analizat.

Avantajul principal al unei asemenea metode de preconcentrare este că toate probele și standardele sînt prelucrate absolut la fel, din momentul injectării pînă la efectuarea determinării.

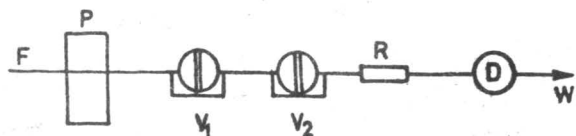


Fig. 4.78. Montaj FIA cu o singură linie folosit la preconcentrarea urmelor de ioni metalici dintr-un volum mare de soluție pe o coloană cu schimbători de ioni, urmată de eluție și determinare. P, pompă, F, flux transportor, V_1 și V_2 , valva de injectare, R, microcoloană cu schimbători de ioni, D, detector, W, rezidii.

În domeniul metodelor FIA bazate pe preconcentrarea probelor folosind coloane cu umplutură este de menționat utilizarea unor materiale absorbante ce conțin 8-hidroxichinolină [117] schimbători de ioni chelatanți [118, 119], metode de injectare bazate pe timp [117, 118, 120] și un mod de lucru în contracurent care evită pătrunderea în detector a componentelor matricei probei de analizat inclusiv în etapa de preconcentrare.

S-au propus și montaje FIA în care pentru preconcentrare se utilizează două coloane [117, 121, 122] care funcționează alternativ, în timp ce una este în etapa de preconcentrare, cealaltă este în etapa de eluție. Aceasta duce la o mărire a numărului de analize ce pot fi efectuate în unitatea de timp.

Microcoloanele cu schimbători de ioni au fost utilizate în montajele FIA și pentru eliminarea interferențelor. Astfel, la determinarea calciului prin spectrofotometrie de absorbție atomică s-a utilizat un anionit care reține anionii ce pot interfera (sulfat, fosfat, silicat etc.) [123].

Van Staden [124] prezintă una din puținele metode FIA în care o microcoloană cu schimbători de ioni se folosește pentru separarea unui amestec de ioni (clorură, bromură și iodură) determinarea lor făcându-se apoi individual cu ajutorul unor electrozi ion selectivi plasați în serie. Limita de detecție este de 5 ppm.

Umplutura unor coloane poate îndeplini și rolul de a converti o anumită specie de analizat într-o altă specie a cărei concentrație se determină ușor. Prima aplicație a acestei tehnici a constat în determinarea azotatului [125] după transformarea sa

în azotit, folosind în acest scop zinc fin granulat. Azotitul este determinat apoi spectrofotometric pe baza compusului colorat format în urma unei reacții de diazotare și cuplare.

Tehnicile FIA cu convertirea speciilor de analizat sînt foarte utile pentru analiza anionilor, pentru care sînt puține metode care permit determinarea lor directă.

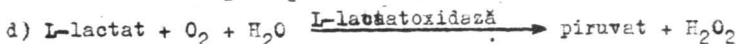
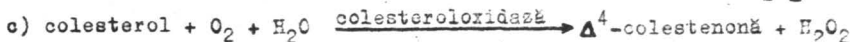
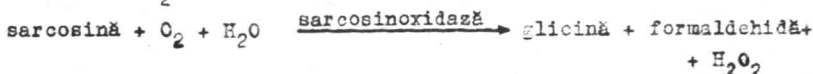
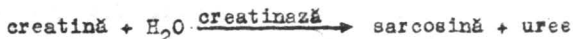
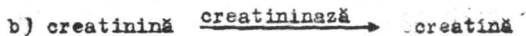
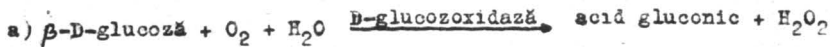
De exemplu, Faizullah și Townshed [136] utilizează o microcoloană cu un anionit în forma SCN^- care la injectarea probei de analizat eliberează o cantitate de tiocianat echivalentă cu concentrația anionilor. Ionul tiocianat este în continuare foarte ușor de dozat spectrofotometric pe baza complexului colorat pe care îl formează cu ionul Fe(III) .

Dezavantajul unei asemenea tehnici este în general lipsa de selectivitate. Prin alegerea adecvată a materialului de umplutură al coloanei se poate atinge însă o mare selectivitate. Astfel, ionul cianură formează un complex cu o compoziție bine determinată $[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$ prin reacție cu sulfura de cupru. Prin folosirea unei microcoloane cu sulfură de cupru într-un montaj FIA în care se injectează proba de analizat, este generată o cantitate de complex proporțională cu concentrația de cianură, cuprul în stare complexată fiind determinat apoi prin absorbție atomică [127].

4.5.11.2. Reactori cu enzime imobilizate

Utilizarea reactorilor cu enzime imobilizate prezintă avantajul selectivității reacțiilor enzimatice și al economiei realizate prin utilizarea enzimei (deseori foarte scumpă) de un mare număr de ori.

Interesantă este lucrarea lui Petersson [128] în care se prezintă un montaj FIA miniaturizat pentru determinarea a patru substraturi care sînt degradate enzimatic pe baza reacțiilor:



În toate cazurile, la sfârșitul reacțiilor se produce H_2O_2 care este determinată prin chemiluminiscență pe baza reacției cu luminol și fericianură. Lipsa de selectivitate a reacției de dozare prin chemiluminiscență este compensată de specificitatea de substrat a enzimei. Pentru dozarea fiecărui substrat se utilizează o coloană separată. Enzimele sînt immobilizate pe mici sfere de sticlă cu pori controlați. Schema de principiu a montajului folosit este prezentată în fig. 4.79.

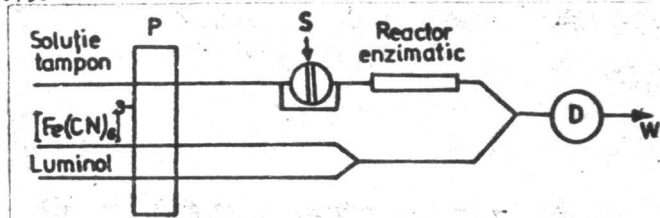
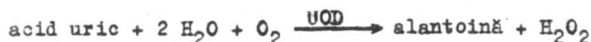
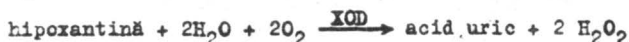
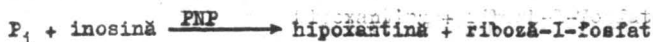


Fig. 4.79. Schema montajului FIA folosit pentru determinarea glucozei, colesterolului liber, a creatininei și a acidului lactic cu detecție prin chemiluminiscență. P, pompă, S, probă de analizat, D, detector, W, rezidii.

Pentru determinarea fosfatului anorganic s-a propus o metodă FIA în care se utilizează două microcoloane în serie ce conțin enzime immobilizate, iar detecția se face prin chemiluminiscență [129]. Au loc următoarele reacții:

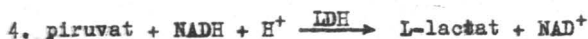
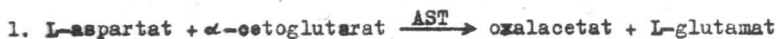


P_i , fosfat anorganic, PNP, purin nucleozid fosforilază, XOD, xantin-oxidază, UOD, urat oxidază, mPOD, microperoxidază.

Se poate constata că dintr-o moleculă de fosfat rezultă trei molecule de apă oxigenată. Metoda este de 160 ori mai sensibilă decât metoda convențională și a fost aplicată la determinarea conținutului de fosfat din acidul dezoxiribonucleic.

Pentru determinarea prin metoda FIA a L-aminoacizilor cu lanțuri ramificate (L-leucină, L-izoleucină și L-valină) s-a utilizat o microcoloană cu leucin dehidrogenază imobilizată pe mici sfere de polistiren [64]. Determinarea s-a făcut prin măsurarea fluorimetrică a NADH produs.

Sugaya și colab. prezintă o metodă pentru determinarea simultană a aspartataminotransferazei (AST) și alaninaminotransferazei (ALT) din serul uman [94]. Determinarea activității acestor enzime și valoarea raportului acestor activități este de mare importanță în diagnosticul unor boli. Determinarea se face pe baza următoarelor reacții enzimatice:



unde MDH este malatdehidrogenaza și LDH lactatdehidrogenaza.

În fig. 4.80 se prezintă schema montajului FIA utilizat.

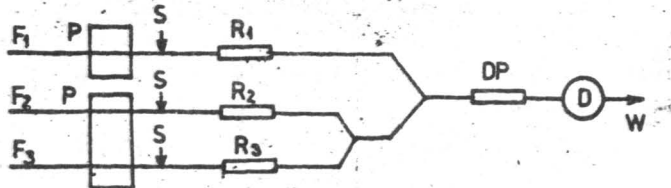


Fig. 4.80. Schema montajului FIA utilizat la determinarea simultană a aspartataminotransferazei și alaninaminotransferazei. F_1 , F_2 și F_3 , fluxuri transportoare. F_1 conține 0,3 mM aspartat, 0,05 mM α -cetoglutarat, 0,5 mM NADH, 0,1 M tampon Tris (pH=7,5); F_2 conține: 0,3 mM alanină, 0,05 mM α -cetoglutarat, 0,5 mM NADH, 0,1 M tampon Tris (pH=7,5); F_3 conține: 0,05 M α -cetoglutarat, 0,05 mM NADH, tampon Tris (pH=7,5). P, pompă, S, valvă de injectare, R_1 , reactor cu MDH imobilizată, R_2 și R_3 , reactori cu LDH imobilizată, DP, coloană pentru deproteinizare, D, detector fluorimetric.

Drumurile străbătute de probele de analizat de la punctul de injectare la detector prin canalele 1, 2 și 3 ale montajului prezentat în fig.4.80 au lungimi diferite, astfel alese ca la injectarea simultană a trei volume din aceeași probă de ser în cele trei canale, să se înregistreze trei semnale alăturate. În toate cazurile se măsoară scăderea concentrației de NADH datorită reacțiilor enzimatiche notate cu (2) și (4). Proba injectată în primul canal permite determinarea activității aspartat aminotransferazei pe baza reacțiilor enzimatiche (1) și (2). Proba injectată în canalul 2 permite determinarea activității alanin aminotransferazei pe baza reacțiilor (2) și (3) dar, totodată, se determină și concentrația de piruvat endogen din ser. Proba injectată în canalul 3 permite numai determinarea piruvatului endogen pe baza reacției enzimatiche (3).

Recent a fost descris un sistem de analiză FIA pentru controlul unui proces de fermentație [130]. Se folosește un sistem modular care constă dintr-o unitate de microfiltrare sterilizabilă, o valvă de injectare care permite inserarea în flux, atât a probelor de analizat cât și a standardelor, o unitate de degazare, un modul de diluare și un dispozitiv FIA prevăzut cu un detector spectrofotometric. Sînt prezentate metode de analiză pentru glucoză, etanol, amoniac și fosfat. Pentru determinarea glucozei și etanolului s-au întreprins montaje FIA ce au inclus microreactori enzimatici.

În fig.4.81 este prezentată schema montajului utilizat pentru determinarea glucozei și alcoolului.

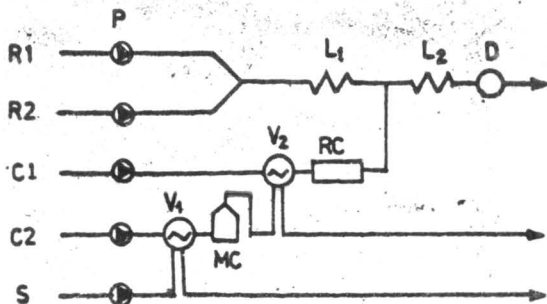


Fig. 4.81. Schema montajului FIA pentru determinarea etanolului și glucozei. P, pompă tip seringă, C₁ și C₂ soluție tampon fosfat, L₁ și L₂, bucle de amestecare, RC, reactor enzimatic, S, probă, D, detector R₁, soluție de 2,4-diclorofenol sulfonat, R₂, soluție de 4-aminofenazonă și peroxidază.

Proba de analizat ce provine din bioreactor (filtrată și degazată) este injectată într-un flux transportor de fosfat, C_2 , și pătrunde în camera de amestecare MC. Fluxul ce părăsește camera de amestecare, circulă prin bucla de injectare a valvei V_2 . În acest flux, specia de analizat prezintă o scădere exponențială a concentrației. Prin injectarea cu ajutorul valvei V_2 a unei anumite porțiuni din zona obținută în urma dispersiei probei în camera de amestecare, se va realiza o diluare controlată a probei de analizat (de aproximativ 200 de ori). În continuare, proba trece prin reactorul enzimatic, RC, ce conține glucozoxidază sau alcooloxidază imobilizate pe mici sfere de sticlă. În urma reacției enzimatice se formează apă oxigenată, care în prezență de peroxidază, 2,4-diclorofenol sulfonat și 4-aminofenazonă formează un colorant chinoniminic, ce este determinat spectrofotometric. Sistemul de analiză permite efectuarea unui număr de 30 de determinări pe oră, limita de detecție pentru etanol și glucoză fiind de 5 mg/L.

Bibliografie

1. Olsen, S., Pessenda, L.C.R., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Analyst, 1983, 108, 905.
2. Brown, M.W. și Ruzicka, J., Analyst, 1984, 109, 1091.
3. Rocks, B.F., Sherwood, R.A. și Riley, C., Clin. Chem., 1982, 28, 440.
4. Zagatto, E.A.G., Jacintho, A.O., Krug, F.J., Reis, B.F., Bruns, E.R. și Kowalski, B.R., Anal. Chim. Acta, 1983, 135, 169.
5. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1980, 114, 19.
6. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1984, 161, 1.
7. Cui, F., Hansen, E.H. și Ruzicka, J., Anal. Chim. Acta, 1985, 169, 209.
8. Dieker, J.K.; van der Linden, W.E. și Poppe, H., Talanta, 1979, 25, 511.
9. Kuroda, R. și Mochizuki, T., Talanta, 1981, 28, 389.
10. Hansen, E.H., Ruzicka, J. și Ghose, A.K., Anal. Chim. Acta, 1978, 100, 151.
11. Kagevall, Z., Aström, O. și Cedergrén, A., Anal. Chim. Acta, 1980, 114, 199.
12. Kagevall, I., Aström, O. și Cedergrén, A., Anal. Chim. Acta, 1981, 132, 215.
13. Koupparis, M.A. și Malmstadt, H.V., Anal. Chem., 1982, 54, 1914.
14. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1980, 114, 19.
15. Petty, R.L., Michel, W.C., Snow, J.P. și Johnson, K.S., Anal. Chim. Acta, 1982, 142, 299.
16. Fogg, A.G., Bsebu, M.K. și Abdalla, M.A., Analyst, 1982, 107, 1402.
17. Fogg, A.G. și Bhanot, D., Analyst, 1981, 106, 883.
18. Yao, T., Kobayashi, Y. și Musha, S., Anal. Chim. Acta, 1982, 136, 81.
19. Hansen, E.H., Ghose, A.K. și Ruzicka, J., Analyst, 1977, 102, 705.
20. Leggett, D.J., Chen, N.H. și Mahadevappa, D.S., Analyst, 1982, 107, 433.
21. Rydevik, U., Nord, L. și Ingman, P., Int. J. Sports Med., 1982, 29, 1109.
22. Gorton, L. și Ogren, L., Anal. Chim. Acta, 1981, 130, 45.
23. Basson, W.D. și Van Staden, J.F., Analyst, 1979, 104, 419.
24. Ridder, C., Hansen, E.H. și Ruzicka, J., Anal. Lett., 1982, 15, 1751.
25. Krug, F.J., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Analyst, 1979, 104, 47.

26. Wolff, Ch.M. și Mottola, A., Anal. Chem., 1978, 50, 94.
27. Ramasamy, S.M. și Mottola, A., Anal. Chim. Acta, 1981, 127, 39.
28. Roehring, P., Wolff, M. și Schwing, J.P., Anal. Chim. Acta, 1983, 153, 181.
29. Jacintho, A.O., Zagatto, E.A.G., Reis, B.F., Pessenda, L.C.R. și Krug, F.J., Anal. Chim. Acta, 1981, 130, 361.
30. Johnson, K.S. și Petty, R.L., Anal. Chem., 1982, 54, 1185.
31. Lázaro, F., Luque de Castro, M.D. și Valcárcel, M., Analyst, 1984, 109, 333.
32. Ries, A., Luque de Castro, M.D. și Valcárcel, M., Talanta, 1984, 31, 673.
33. Luque de Castro, M.D. și Valcárcel, M., Analyst, 1984, 109, 413.
34. Luque de Castro, M.D., Valcarcel, M., Trends Anal. Chem., 1986, 5, 71.
35. Fang, Z., Harris, J.M., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chem., 1985, 57, 1457.
36. Morishita, F., Nishikawa, Y. și Kojima, T., Anal. Sci., 1986, 2, 411.
37. Virtanen, R., în: Ion-Selective Electrodes, 1981, 3, 375.
38. van Staden, J.F., Analyst, 1986, 111, 1231.
39. Anderson, L., Anal. Chim. Acta, 1979, 110, 123.
40. Hanser, P.C., Tan, S.S., Cardwell, T.J. și Cattrall, R.W., Analyst, 1988, 113, 1551.
41. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1983, 145, 1.
42. Olsen, S., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1982, 136, 101.
43. Reis, B.F., Jacintho, A.O., Mortatti, J., Krug, F.J., Zagatto, E.A.G., Bergamin, H. și Pessendra, L.C.R., Anal. Chim. Acta, 1981, 123, 221.
44. Krug, F.J., Bergamin, H. și Zagatto, E.A.G., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 103.
45. Zanata, J. și Ruzicka, J., Anal. Chim. Acta, 1982, 139, 105.
46. Lawrence, K.E., Rice, G.W. și Panel, V.A., anal. Chem., 1984, 56, 289.
47. Israel, Y., Barnes, R.M., Anal. Chem., 1984, 56, 1186.
48. Tich, N.E., Israel, Y. și Barnes, R.M., Anal. Chim. Acta, 1986, 184, 205.
49. Dobbins, J.T., Martin, J.M., Spectroscopy, 1986, 1, 20.
50. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1978, 99, 37.
51. Pardue, H.L. și Fields, B., Anal. Chim. Acta, 1981, 124, 39.

52. Pardue, H.L. și Fields, B., Anal. Chim. Acta, 1981, 124, 65.
53. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1977, 92, 235.
54. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., "Flow Injection Analysis", Wiley, New York, 1981.
55. Ramsing, A.U., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1981, 129, 1.
56. Ruzicka, J., Hansen, E.H. și Mosback, H., Anal. Chim. Acta, 1977, 92, 235.
57. Tyson, J.F., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 131.
58. Betteridge, D. și Fields, B., Anal. Chem., 1978, 50, 654.
59. Betteridge, D. și Fields, B., Anal. Chim. Acta, 1981, 132, 139.
60. Bergamin, H., Zagatto, E.A.G., Krug, F.J. și Reis, B.F., Anal. Chim. Acta, 1978, 101, 17.
61. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1980, 114, 19.
62. Mindegaard, J., Anal. Chim. Acta, 1979, 104, 185.
63. Zagatto, E.A.G., Krug, F.J., Bergamin, H., Jorgensen, S.S. și Reis, B.F., Anal. Chim. Acta, 1979, 104, 279.
64. Kiba, N., Nori, S. și Furusawa, M., Anal. Chim. Acta, 1989, 218, 161.
65. Worsfold, P.J. și Nabi, A., Anal. Chim. Acta, 1985, 171, 333.
66. Worsfold, P.J., Hughes, A. și Mowthorpe, D.J., Analyst, 1985, 110, 1303.
67. Worsfold, P.J. și Nabi, A., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 307.
68. Lim, C.S., Miller, J.N. și Bridges, J.W., Anal. Chim. Acta, 1980, 114, 183.
69. Miller, N.J., Anal. Proc., 1981, 18, 264.
70. Hansen, E.H., Ruzicka, J., Krug, F.J. și Zagatto, E.A.G., Anal. Chim. Acta, 1983, 148, 111.
71. Ranger, C.B., Ind. Res. Dev., 1979, 21, 134.
72. Fang, Z., Harris, J.M., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chem., 1985, 57, 1457.
73. Karlberg, B. și Thelander, S., Anal. Chim. Acta, 1978, 98, 1.
74. Bergamin, H.F., Medeiros, J.X., Reis, B.F. și Zagatto, E.A.G., Anal. Chim. Acta, 1978, 101, 9.
75. Rossi, Th.M., Dennis, C.Sh. și Isiah, M.W., Anal. Chem., 1982, 54, 2056.
76. Lucy, Ch.A. și Cartwell, F.F., Anal. Chem., 1989, 61, 101.
77. Lucy, Ch.A. și Cartwell, F.F., Anal. Chem., 1989, 61, 107.
78. Shelly, D.C., Rossi, T.M., Warner, J.M., Anal. Chem., 1982, 54, 87.
79. Nord, L. și Karlberg, B., Anal. Chim. Acta, 1984, 164, 233.

80. Karlberg, B., Anal. Chim. Acta, 1986, 180, 16.
81. Nord, L., Bäckström, K., Danielsson, L.G., Ingman, F. și Karlberg, B., Anal. Chim. Acta, 1987, 194, 221.
82. Karlberg, B., Anal. Chim. Acta, 1988, 214, 29.
83. Audunsson, G., Anal. Chem., 1986, 58, 2714.
84. Ogata, K., Taguchi, K. și Imanari, T., Bunseki Kagaku, 1982, 31, 641.
85. Karlberg, B., Johansson, P.A. și Thelander, S., Anal. Chim. Acta 1979, 104, 21.
86. Lucy, Ch.A. și Cantwell, F.F., Anal. Chem., 1986, 58, 2727.
87. Motomizu, Sh., Hazakura, Y., Oshima, M. și Tōei, K., Anal. Sci., 1987, 3, 265
88. Del Valle, M., Alonso, Z., Bartroli, J. și Marti, J., Analyst, 1988, 113, 1677.
89. Motomizu, Sh. și Oshima, M., Analyst, 1987, 112, 295.
90. Fossey, L. și Cantwell, F.F., Anal. Chem., 1982, 54, 1693.
91. Imasaka, T., Haranda, T. și Ishibashi, N., Anal. Chim. Acta, 1981, 129, 195.
92. Baadenhuijsen, H. și Seuren-Jacobs, H.E.H., Clin. Chem., 1979, 25, 443.
93. Karlberg, B. și Twengström, S., In: Focus, 1983, 6, 14.
94. Sugaya, T., Naito, S., Yonezawa, Sh., Monshita, F. și Kojima, T., Anal. Sci., 1988, 4, 579.
95. Möller, J. și Winter, B., Fresenius Z. Anal. Chem., 1985, 320, 411.
96. Hollowell, D.A., Gord, J.R., Gordon, G. și Pacey, G.E., Anal. Chem., 1986, 58, 1524.
97. Yamamoto, M., Tokada, K. și Kumamaru, T., Anal. Chem., 1987, 59, 2446.
98. Pacey, G.E., Stroka, M.R., Gord, S.R., Anal. Chem., 1986, 58, 502.
- ✓ 99. Wang, X și Barnes, R.M., J. Anal. At. Spectrom., 1988, 3, 1091.
100. Hansen, E.H. și Ruzicka, J., Anal. Chim. Acta, 1976, 87, 353.
101. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1976, 87, 355.
102. Hansen, E.H. și Ruzicka, J., Anal. Chim. Acta, 1977, 89, 241
103. van Staden, J.F. și Basson, W.D., Lab. Pract. 1980, 29, 1279.
104. Rocks, B.F. și Riley, C., Clin. Chem., 1982, 28, 409.
105. Kie, R.I. și Christian, G.D., Anal. Chem., 1986, 58, 1806.
106. Worsfold, P.J., Farrelly, J. și Matharu, M.S., Anal. Chim. Acta, 1984, 164, 103.
107. Masoom, M. și Townshend, A., Anal. Chim. Acta, 1984, 166, 119.
108. Gordon, L. și Ögren, L., Anal. Chim. Acta, 1981, 130, 45.
109. van Staden, J.F. și van Rensburg, A., Analyst, 1990, 115, 1049.

110. Kuhr, W.G.L. și Korf, J., Anal. Chim. Acta, 1988, 205, 53.
111. Macheras, P.E. și Kouppazis, M.A., Anal. Chim. Acta, 1986, 185, 65.
112. Koropchak, J.A. și Allen, L., Anal. Chem., 1989, 61, 1410.
113. Mandenius, C.F., Danielsson, B. și Mattiasson, B., Anal. Chim. Acta, 1984, 163, 135.
114. Olsson, B., Lundbäck, H. și Johansson, G., Anal. Chim. Acta, 1985, 167, 123.
115. Lundbäck, H. și Olsson, B., Anal. Lett. 1985, 18, 871.
116. Olsen, S., Pessenda, L.C.R., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Analyst, 1983, 108, 905.
117. Malamas, F., Bengtsson, M. și Johansson, G., Anal. Chim. Acta, 1984, 160, 1.
118. Hartenstein, S.D., Ruzicka, J. și Christian, G.D., Anal. Chem., 1985, 57, 21.
119. Wada, H., Asakura, K., Rattaiah, G.V. și Nakagawa, G., Anal. Chim. Acta, 1988, 214, 439.
120. Hartenstein, S.D., Christian, G.D. și Ruzicka, J., Can. J. Spectrosc., 1986, 30, 144.
121. Fang, Z. și Zhang, S., Anal. Chim. Acta, 1984, 164, 41.
122. Storgaard Jorgensen, S., Petersen, K.M. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1985, 169, 51.
123. Kam Son, M.P. și Townshend, A., Anal. Chim. Acta, 1983, 155, 253
124. van Staden, J.F., Anal. Chim. Acta, 1989, 219, 55.
125. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1980, 114, 19
126. Faizullah, A.T. și Townshend, A., Anal. Chim. Acta, 1986, 179, 233.
127. Haj-Hussein, A.T., Christian, G.D. și Ruzicka, J., Anal. Chem., 1986, 58, 38.
128. Petersson, B.A., Hansen, E.H. și Ruzicka, J., Anal. Lett., 1986, 19, 649.
129. Kawasaki, H., Soto, K., Ogawa, J., Hasegawa, Y. și Yuki, H., Anal. Biochem., 1989, 182, 366.
130. Garn, M., Gisin, M., Thommen, Ch. și Cevey, P., Biotech. and Bioeng., 1989, 34, 423.

cale 309/1992 Fac. 14

4.6. Aplicații ale metodei de analiză prin injectare în flux

Cu ajutorul metodei FIA au fost automatizate numeroase metode analitice bazate pe reacții chimice ce au loc în soluție. Selectivitatea acestor metode rămâne neschimbată, sau în anumite condiții se îmbunătățește. Pe lângă avantajul că pot fi analizate un număr mare de probe, metoda permite în plus determinarea din aceeași probă a mai multor constituenți.

Datorită numărului mare de analize medicale solicitate zilnic, chimia clinică constituie un domeniu în care metoda FIA își găsește o aplicabilitate deosebită. Efectuarea determinărilor este ușurată într-o oarecare măsură de faptul că în general parametrii analizați nu variază în limite foarte largi, iar matricea probelor analizate este asemănătoare. Totuși tehnica FIA nu a dobândit o recunoaștere deplină în chimia clinică. Aceasta în primul rând datorită faptului că pînă în prezent nu sînt livrabile comercial decît un număr redus de tipuri de aparate FIA și care nu pot rezolva solicitările foarte diverse caracteristice acestui domeniu. În plus în chimia clinică este necesară adeseori efectuarea determinării unui număr mare de specii chimice din aceeași probă, iar tehnica FIA pînă în prezent reușește cu greu să îndeplinească această cerință.

Metoda FIA a fost adaptată la controlul și optimizarea unor procese de fermentație și la automatizarea unor metode enzimactice de analiză.

În ultimul timp metoda FIA a fost aplicată la determinarea "on-line" a variabilelor unor procese industriale, fiind comercializate analizoare FIA de proces [1] dedicate urmării continue a unor parametri specifici. În controlul unor procese industriale FIA prezintă o serie de avantaje și anume: timpul de răspuns scurt de ordinul 20-30 de secunde, efectuarea unor determinări cvasicontinue, datorită numărului mare de analize executate succesiv, calibrarea se face ușor prin injectarea unor etaloane, semnalele sînt obținute sub formă unor picuri, aceasta permițînd punerea în evidență foarte ușor a unui drift al aparatului, contactul speciei de analizat cu detectorul este foarte scurt, între probe, detectorul fiind în contact cu fluxul transportor ce permite curățirea lui și eventual regenerarea suprafeței sale.

Aparatura necesară simplă, diversitatea de tehnici ce pot fi folosite, timpul scurt de obținere a răspunsului analitic, reproductibilitatea înaltă a determinărilor, consumul redus de probă și reactivi, precum și faptul că se lucrează într-un sistem închis, au făcut ca metoda FIA să fie aplicată în numeroase domenii.

De la inițierea ei metoda FIA a cunoscut o creștere continuă,

practic exponențială, aceasta constituind un indiciu al posibilităților ei mari de dezvoltare și de implementare în laboratoarele analitice. În prezent numeroase firme din mai multe țări produc aparate de laborator bazate pe principiul FIA; Pe cele mai importante dintre acestea le-am menționat în capitolul 4.5.

Numărul mare de articole apărute pînă în prezent privind metoda FIA, ce se referă la cîteva sute de specii chimice ce pot fi analizate, nu ne permite decît o prezentare foarte sumară și numai a unor exemple privind aplicațiile acestei metode. În fig. 4.82 se prezintă distribuția publicațiilor FIA apărute pînă în anul 1985, în funcție de domeniul de aplicare. În funcție de domeniile de utilizare, aplicațiile metodei FIA au fost clasificate în următoarele categorii principale:

- protecția mediului înconjurător și combaterea poluării;
- industria alimentară;
- agrochimie;
- biotehnologie;
- industria farmaceutică;
- chimia clinică.

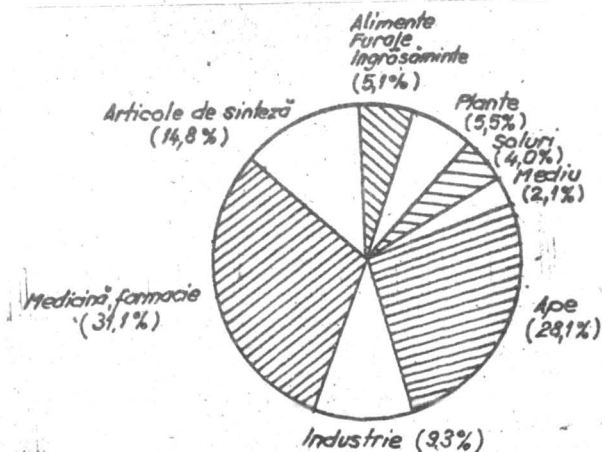


Fig. 4.82 - Distribuția publicațiilor FIA în funcție de domeniul de aplicare

În tabelele 4.4 - 4.10 sînt date o serie de exemple privind aplicații ale metodei FIA în domeniile menționate mai sus.

Tabelul 4.4

Exemple privind aplicarea metodei FIA la controlul și combaterea poluării mediului ambiant

Specia analizată	Tipul de probă	Detecție	Domeniul	Nr.pro-be/oră	Observații	Bibl.
Al	ape de suprafață	Fot.	0,01-10 mg/L	100	cu pirocatehol violet	2
	ape potabile	Fot.	0-400 mg/mL	45	cu cromazurol S	3
amine	ape de mare	Fl.	0-10 ⁻⁶ M	120-150	cu o-ftalaldehidă	4
amine terțiare	ape și ape de mare	CL	10 ⁻⁵ -10 ⁻² M		oxidare cu NaOCl în prezență de Rodamină B	5
NH ₃	aer		7-500 ppm	3-8	semiconductori sensibil la gaze	6
	ape tratate	Pot.	2·10 ⁻⁵ -10 ⁻² M	30	electrod ion selectiv, difuzie gazoasă	7
NH ₄ ⁺	ape naturale	Fot.	5-1000 μg/L	90	cu albastru de indolenol	8
	apa de ploaie		200 μg/L	40	cu reactiv Nessler	9
Ca	ape		0-200 mg/L	120	cu o-crezol-ftaleină	10
fluorură	ape, băuturi	Pot.	0,01-1 mg/L	300	electrod ion selectiv	11
clorură	ape	Fot.	0-1400 mg/L	300	cu Fe(III)/Mg(SCN) ₂	12
0	1	2	3	4	5	6

0	1	2	3	4	5	6
bromură	apa de mare	Fot.	1-10 mg/L	120	cu roșu de fenol	13
clor liber	ape potabile	CL	1.d.=10 ⁻⁷ M	240	cu Rodamină 6G	14
Cr	ape naturale și uzate	Fot.	0,1-1,25mg/L Cr(VI)	30-100	cu difenil-carbazidă	15
			0,5-5,0 mg/L Cr(III)		oxidare la Cr(VI) cu Ce(IV)	
Cu	ape de mare	AAS	0,3-4,0 mg/L	60		16
Cu și Fe	ape	Fot.	1-43 μM		Detectie si-multană cu a-mestec de reac-tivi	17
GM ⁻	ape uzate	Fot.	0,1-1,0 mg/L	20-28	cu cloramină T-piridină-a-cid barbituric	18
formalde-hidă	aer	Fot.	0,2-10 μg/mL	18	în flux stopat cu p-rozanili-nă	19
Fe total + Cr ⁶⁺	ape uzate	Fot.	0,2-10 ppm	60	cu 1,10-fenan-trolină și 1,5-difenil-carbazidă	20
K	ape potabile	Fot.	1-80 mg/L		determ. simult. a K, Li, Na, Ca	21
Hg	ape	AAS	0-20 ppb		abs. atomică cu vap. reci	22
NO ₃ ⁻	ape	Fot.	0,025-3 ppm	100	red. la NO ₂ ⁻ diazotare și cuplare	23
SO ₄ ²⁻	apa de ploaie	Pot.	10 ⁻⁵ -10 ⁻³ M		electrod ion selectiv	24
	apa de ploaie	Pot.	0,4-25 mg/L	40	electrod ion selectiv	25
sulfură	ape uzate	Pot.	0,4-24 mg/L	60	electrod ion selectiv	26
detergenți anionici	apa de râu	Fot.	3·10 ⁻⁵ M	20	extracție a pe-rechii ionice formate cu al-bastru de meti-len	27
detergenți anionici	ape uzate	Fot.	0,04-3,5 μg/mL		extracție de perechi ionice	28

(explicațiile prescurtărilor la sfârșitul tabelului 4.10)

Tabelul 4.5

Exemple de aplicații ale metodei FIA în industria alimentară

Specia analizată	Tipul de probă	Detecție	Domeniul	Nr.probe/oră	Observații	Bibl.
etanol	vin	Pot.	0,025-0,8%	46	reactor enzimatic	29
	băuturi	Pot.	0-0,4%	120	- " -	30
acid ascorbic	fructe, sucuri	Amp.	1.d.= 4ng/mL	30	electrod enzimatic	31
As	făină	AAS	0,04-0,3 ng	12	generare de hidruri volatile	32
Amidon	cartofi	Amp.	0,1-1000 μ g/mL	23	reactor enzimatic	33
NO ₂ ⁻	carne	Amp.	1.d.=0,02 ppm		electrod de carbon sticlos	34
Ca ²⁺	lapte	Pot.	250-1500 mg/L	180	cu o-crezol-ftaleină	35
Cl ⁻	lapte	Amp.	0,25-5 g/L	120	electrod ion selectiv	36
colesterol	unt		0-80 mg/100 g	80	enzimatic	37
Cu	banane, pere, orez		0,2-300 ng/mL	72	catalitic	38
glucoză	alimente	Amp.	0,01-3 mM	80	electrod enzimatic	39
sucroză, glucoză	băuturi		5 μ M-1 mM	30	enzimatic	40
lactoză	lapte	Amp.	0,05-300 mM		electrod enzimatic	54
aciditatea berii	bere	Pot.	pH 1-3,2		titrare acidobazică FIA	42
bromat	făină	Pot.	0,5-5 mg/L		react.cu iodură și amidon	43
I ⁻	sare de masă	Amp.	5-2000 mg/L	120	electrod ion selectiv	44
Mn	cafea, orez	Pot.	0,2-1300ng/mL	45	catalitic	45
glucoză, fructoză, sucroză	fructe	Amp.	10 ⁻⁵ -10 ⁻³ M		enzimatic	46
carbohidrați	bere		zecimi de procente și procente		- " -	47
paraquat	cartofi		1-10 mg/L	80	preconcentrare cu schimb. de ioni	48
acid tartric	vinuri		0,02-0,40 g/L	50	reacție cu rodanat	50
0	1	2	3	4	5	6

0	1	2	3	4	5	6
glucoză, sucroză și maltoză	miere, făină și vinuri	Pot.	0,1-30%		enzimatic	51
SO ₃ ²⁻	vinuri, sucuri	Pot.	1-10 ppm	60	difuzie gazoasă	52
Se	cereale	AAS	2-10 µg/L	250	generare de H-druri volatile	53

(explicațiile prescurtărilor la sfârșitul tabelului 4.10)

Tabelul 4.6

Exemple de aplicații ale metodei FIA în agrochimie

Specia analizată	Tipul de probă	Detecție	Domeniul	Nr.probe/oră	Observații	Bibl.
Sb, As, Se, Bi, Te	plante	AAS	0,5-20 µg/mL	120	generare de hidruri volatile	55
B	plante	Pot.	0,1-6,0 ppm	60	cu azometin H	56
Br ⁻	soluri	Pot.	1-5000 ng/L	80	electrod ion selectiv	57
Ca	plante, soluri	Pot.	0,5-5%	300	cu o-crezolftalină	58
K	îngășăminte agricole	Pot.	4·10 ⁻⁵ -10 ⁻² M	115	electrod ion selectiv	59
Cu	plante	Pot.	0,06-6,0 µg/mL	120	catalitic	60
silicat	soluri	Pot.	30 µg/L	35	cu albastru de moliden	61
sulfonamide	semințe tratate	Pot.	0,5-5 mM	72	titrare FIA	62

(explicațiile prescurtărilor la sfârșitul tabelului 4.10)

Tabelul 4.7

Exemple de aplicații ale metodei FIA în biotehnologie

Specia analizată	Tipul de probă	Detecție	Domeniul	Nr.probe/oră	Observații	Bibl.
amilază	medii de fermentație	Pot.	0,01-0,1 U/mL	80	pe baza comp. iod/amidon	63
cefalosporine	- " -	Pot.	10-800 µg/mL	30	enzimatic	64
pencilina V	- " -	Pot.	10-1000 U/mL	90	hidroliză enzimatică	65
apa oxigenată	sist. de celule aerobe	Pot.	10 ⁻⁴ -10 ⁻¹ M		enzimatic cu peroxidază	66
Penicilinază	soluții apoase		0,04-6,6 U/mL		enzimatic	67
0	1	2	3	4	5	6

0	1	2	3	4	5	6
glucoză, medii de etanol fermentație fosfat	Fot.	l.d.=5 mg/L	30	enzimatic		
		l.d.=1 mg/L		cu albastru de molidben		68
NH ₃		l.d.=50 mg/L		reacția Bertholet		
dehidrogenaze	extract de Fl. Rhodococcus sp M4	l.d. 0,01U/mL	180	det.fluorescenței NADH		69

(explicațiile prescurtărilor la sfârșitul tabelului 4.10)

Tabelul 4.8

Exemple de aplicații ale metodei FIA în industria farmaceutică

Specia analizată	Detecție	Domeniul	Nr.probe /oră	Observații	Bibl.
acid ascorbic		0,5-10 mM	45-60	met.redox	70
isoniazid	Amp.	0-60 μ g			71
cortico-steroidi	Fot.	ppm	100	reducere cu tetrazol	72
dopamină	Volt.	$8 \cdot 10^{-7}$ - $3 \cdot 10^{-5}$ M			73
eritromicină	CL	l.d.=24ng/mL	60	reacții cu tris(bipy) Ru(III)	74
penicilină	Fot.	0,1-15 mM	60	hidroliză enzim.urmată de det. pH-ului	75
paracetamol	Fot.	0,25-30ppm			76
bromură	Fot.	1-10 mg/L	120	cu cloramină T și roșu de fenol	77
allopurinol	Pol.	l.d.=1,8 μ M	90	polarografie anodică	78
medicamente fenotiazinice	Amp.	l.d. < 1 ng	200	electrozi din fibre de carbon	79
clorhexidină	Turb.	10-63 μ g/mL		formare de pp.cu albastru de timol	80
nitrazepam și flunitrazepam	Volt.	5-30 μ g/mL	150	electrod de carbon	81
hormoni tiroidieni	Fot., Fl.	2-80ng/mL		metode cinetice	82
brotizolam și midazolam	Fot.	10^{-6} - 10^{-4} M			83
clonazepam	Volt.	0,6-31 μ g/mL	120	electrod de carbon sticlos	84
0	1	2	3	4	5

0	1	2	3	4	5
triazolam	Pot.	5-200µM			85
clotiazepam	Amp.				
vitamina D ₃	Amp.	1,8·10 ⁻⁷ - -1·10 ⁻⁵ M	40	electrod de cărbune sti- clos	86

(explicațiile prescurtărilor la sfârșitul tabelului 7)

Tabelul 4.9

Aplicații ale metodelor FIA neenzimatică la efectuarea unor analize clinice

Speciile de dozat	Tipul de probă	Detec- ția	Domeniul de determinare	Nr.pro- be/oră	Obser- vații	Bibl.
NH ₃	sînge, plasmă	Pot., A-B			difuzie ga- zoasă	87
Li	ser	Pot.			dializă și electr. Ion selectiv	88
Li	ser, sînge	AAS		720		89
Na, K, Li, Ca, Mg, Zr, Cu, Fe	ser, urină	AAS		240		90
Na, K	ser	Pot.	10 ⁻³ -10 ⁻⁴ M	90	det.simult.	91
Ca	ser	Pot.	1,5·10 ⁻³ -5·10 ⁻⁵ M	100	det.simult. a pH și pCa	92
	ser	Pot.	1-25 mg/mL	110		
	ser, urină	AAS	0,05-0,1 mg/mL	100		93
Ca, pH	sînge (in vivo)	Pot.				94
Zr, Na, Al, K, Ba, Ca, Cr, Mo, Si, Mg, Fe, Sn, Ti, V	ser	AAS+ ICP	1.d.=3-700 ng/mL	240		95
Na, K, Ca, Mg, Li, Cu, Fe, Zn	ser	-"-	1.d.=0,01-0,50 µg/mL			96
Mg	ser	AAS		120		97
Ca, Mg	ser, plasmă	AAS		30		98
Fe legat	sînge	AAS				99
Zn	ser	AAS		180		100
Cu	ser	Pot.	1.d.=0,25 µg/mL	325		101
	ser	Pot.	0,7-15 µg/mL	70		102
	ser	Fl.	0,2-100 ng/mL	72		103
Pb	sînge	Volt.	0-50 µg/L		voltametrie inversă	104
0	1	2	3	4	5	6

0	1	2	3	4	5	6
Se	ser, plasmă	AAS	l.d.=1,2 ng/mL	90	generare de hidruri volatile	105
PO_4^{3-}	plasmă, urină	Fot.	l.d.=100 pg P	80	Sep.prin membrane. Extracție	106
PO_4^{3-}	ser	Fot.	50-150 meq/L	125	sep.prin dializă	107
Cl^-			10-60 mg/L	130		
SO_4^{2-}	urină	Turb.	4-15 mM	120	sep.prin dializă	108
CO_2 total	plasmă	Fot.	10-50 mM	70	sep.prin dializă	109
Cl^-	ser	Fot.	l.d.= $10^{-4}M$			110
ON^-			10^{-3} - $10^{-6}M$			
Fe, Cu	ser	Fot.	0,7-33 μM Fe 0,4-35 μM Cu		det. simultană	111
Hg	urină	SP	l.d.=5 nM			112
Zn	mat.biol.	Volt.			dializă	113
oxalat	urină	Fl.	l.d.=6 $\mu mol/L$			114
PO_4^{3-}	ser	Volt.	10^{-5} - $5 \cdot 10^{-6}M$			115
NO_2^-	salivă	Fl.	l.d.= $4,3 \cdot 10^{-8}M$	30	cu 4-hidroxi-cumarină	116
aminoacizi		Amp.	10^{-6} - $5 \cdot 10^{-6}M$			117
glicină	ser	Fl.	0-8 $\mu g/mL$	180		118
albumină			l.d.=2pg/mL			
Albumină	ser	CL	$3 \cdot 10^{-9}$ - $3 \cdot 10^{-7}M$			119
	ser	Fot.	10-160 g/L	300		120
	ser	Fot.		120	met.ant.	121
proteine totale	ser de bovină		0-100 g/L	150	met.ant.	122
creatinină	ser, urină	Fot.		120		123
vitamina C	urină	Fot.	$\mu g/mL$	90		124
	urină	Fot.	15-250 $\mu g/mL$	70		125
piridoxal	aer	Fl.	$2,5 \cdot 10^{-8}$ - $10^{-3}M$	25	reacție catal.	126
piridoxal -5-fosfat	ser	Fl.	10^{-8} - $10^{-3}M$			127
etanol	ser	Volt.	$2 \cdot 10^{-4}$ - $5 \cdot 10^{-2}M$	30	electrod de nichel	128
clorproc-mazină	urină	Volt.	$1,5-9 \cdot 10^{-6}M$			129

(explicațiile prescurtărilor la sfârșitul tabelului 4.10)

Tabelul 4.10

Aplicații ale metodelor FIA enzimatică la efectuarea unor analize clinice.

Speciile de analizat	Tipul de probă	Detectia	Domeniul de determinare	Nr. probe/oră	Observații	Bitl.
glucoză	ser	Fot.	0,5-15 mM	60		130
	sînge	Fot.		300		131
	ser		0,5-4,0 mg/mL	60		132
	ser	Amp.	0,01-3,0 mg/mL	1700	în buclă închisă	133
	ser	CL	50 μM-1 mM	20	enzimă imobil.	134
	sînge	Pot.	2-80 mM	120	electrod enzimatic	135
uree	ser	Pot.	4-20 mM	60	reactor enzimatic	136
	ser	CL	1.d.=5 n moli	60		137
H ₂ O ₂		CL	0,1-1,0 μM	1200		138
ATP		CL	1.d.=10 ⁻⁷ M			139
etanol	sînge	Fot.	12-32 μg/mL	70	în flux stopat	140
	sînge	FL	1,25-20,0 μg/mL	40	în flux stopat	141
	sînge	Amp.	5-30 μg/mL	50		142
albumină	ser	FL	0-2 mg/mL		met.ast. în flux stopat	143
	ser	CL-FL				144
fluoresceină	ser	CL	1.d.=10 ⁻¹¹ M			145
fluorescamină	ser					
IG G	ser	FL-L	1,4-25 μg/mL	60	enzimă marcată	146
acid uric	fluide biol.	Amp.	20-80 μg/mL	100	enzimă imobilizată	147
LDH	ser	Fot.	213 IU	30	piruvat/NADH	148
L-lactat		Amp.	10 ⁻⁶ -8·10 ⁻⁵ M	30	enzimă imobil.	149
		Amp.	10 μM-1,5 mM	30	electrod modif. chimic	150
	plasmă	Amp.	2·10 ⁻⁵ -2·10 ⁻⁴ M		electrod de Pt.	151
colinestează	ser	Amp.	2,5·10 ⁻⁴ -0,1 IU	40	electrod de Pt	152
IG G	ser	FL-L	1,4-25 μg/mL	60	enzimă marcată	153
IG G	fluide biolog.	Pot.	< μg/mL		reacție imunologică	154

AAS - spectrometrie de absorbție atomică.

A - B - acid - bază

Amp. - amperometric

CL - chemiluminiscență

FFot. - flamfotometrie

FL - fluorimetric

Fot. - fotometric

FL-L fluorimetric cu laser
IOP - spectrometrie de emisie cu plasmă cuplată inductiv
l.d. - limită de detecție
P - precipitare
Pol. - polarografic
Pot. - potențimetric
Red.- reacție redox
Turb. - turbidimetric
SP - stripping potențimetric
Volt. - voltametric

B I B L I O G R A F I E

1. FIATron Process Systems, Oconomowoc, Wisconsin, S.U.A., 1988
2. Royst, O., Anal. Chim. Acta, 185, 1986, 75.
3. Bouzid, B. și MacDonald, A.M.G., Anal. Chim. Acta, 1988, 207, 337
4. Petty, R.L., Michel, W.C., Snow, J.P. și Johnson, K.S., Anal. Chim. Acta, 1982, 142, 299.
5. Lancaster, J.S., Vorsfold, P.J. și Lynes, A., Analyst, 1989, 114, 1659.
6. Winquist, P., Spetz, A. și Lundström, I., Anal. Chim. Acta, 1984, 164, 127.
7. Alegret, S., Alonso, J., Bartroli, J. și Martinez-Fabregas, E., Analyst, 1989, 114, 1443.
8. Krug, F.J., Reis, B.F., Gine, M.F., Zagatto, E.A.G., Ferreira, J.R. și Jacintho, A.O., Anal. Chim. Acta, 1983, 151, 39.
9. Bergamin, F.H., Reis, B.F., Jacintho, A.O. și Zagatto, E.A.G., Anal. Chim. Acta, 1980, 117, 81.
10. Müller, J., Labor. Praxis, 1983, 7, 162.
11. Frenzel, W. și Brätter, P., Anal. Chim. Acta, 1986, 188, 151.
12. Kuzicka, J., Stewart, J.W.B. și Zagatto, E.A.G., Anal. Chim. Acta, 1976, 81, 387.
13. Anaagnostopoulou, P.I. și Koupparis, M.A., Anal. Chim. Acta, 1986, 58, 322.

14. Nakagama, T., Yamada, M. și Hibo, T., *Analyst*, 1989, 114, 1275.
15. Ruz, J., Rios, A., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., "Presenius" *Z. Anal. Chem.*, 1985, 322, 499.
16. Fang, Z., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., *Anal. Chim. Acta*, 1984, 164, 23.
17. Kuban, V. și Gladilovich, B.D., *Coll., Czech. Chem. Commun.*, 1988, 53, 1461.
18. Rios, A., Luque de Castro, M.D. și Valvarcel, M., *Talanta*, 1984, 31, 673.
19. Munoz, M.P., De Villena Rueda, F.J. și Poño Diez, L.M., *Analyst*, 1989, 114, 1469.
20. Aranjó, A.N., Lima, J.L.F.C., Rangel, O.S.S., Alonso, J., Bartroli, J. și Barber, R., *Analyst*, 1989, 114, 1465.
21. Fang, Z., Harris, J.M., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., *Anal. Chem.*, 1985, 57, 1457.
22. Morita, H., Kimoto, T. și Shimonura, S., *Anal. Lett.*, 1983, 16, 1187.
23. Koupparis, M.A., Walczak, K.M. și Malmstadt, H.V., *Anal. Chim. Acta*, 1982, 142, 119.
24. Hara, H., Horvai, Gy. și Pungor, E., *Analyst*, 1988, 113, 1817.
25. Shipgun, L.K., Eremina, I.D. și Zolotov, Yu.A., *Zh. Anal. Khim.*, 1986, 41, 1557.
26. Van Staden, J.F., *Analyst*, 1988, 113, 885.
27. Motomizu, Sh., Oshima, M. și Kuroda, T., *Analyst*, 1988, 113, 747.
28. Del Valle, M., Alonso, J., Bartroli, J. și Marti, I., *Analyst*, 1988, 113, 1577.
29. Lazaro, F., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., *Anal. Chem.*, 1987, 59, 1859.
30. Mochizuki, T. și Kuroda, R., *Prezenius 'Z. Anal. Chem.*, 1981, 309, 363.
31. Greenway, G.M. și Ongomo, P., *Analyst*, 1990, 115, 1297.
32. Yamamoto, M., Yasuda, M. și Yamamoto, Y., *Anal. Chem.*, 1985, 57, 1382.
33. Emneus, J., Applequist, R., Marko-Varga, G., Gorton, L. și Johanson, G., *Anal. Chim. Acta*, 1986, 180, 3.
34. Newbery, J.E., Loperz de Haddad, M.P., *Analyst*, 1985, 110, 81.
35. Basson, W.D. și Van Staden, J.F., *Analyst*, 1979, 104, 419.
36. Van Staden, J.F., *Anal. Lett.*, 1986, 19, 1407.
37. Masoom, M. și Townsend, A., *Anal. Chim. Acta*, 1985, 174, 293.
38. Lazaro, F., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., *Anal. Chim. Acta*, 1984, 177, 177.

39. Moody, G.J., Sanghera, G.S. și Thomas, J.D.R., *Analyst*, 1986, 111, 605.
40. Koerner, C.A. și Nieman, T.A., *Anal. Chem.*, 1986, 58, 116.
41. Kelly, T.A. și Christian, G.D., *Talanta*, 1982, 29, 1109.
42. Williams, J.G., Holmes, M. și Porter, D.G., *J. Autom. Chem.*, 1982, 4, 176.
43. Osborne, B.G., *Analyst*, 1987, 112, 137.
44. Van Staden, J.F., *Anal. Proc.*, 1987, 24, 331.
45. Maspoch, S., Blanco, M. și Cerda, V., *Analyst*, 1986, 111, 69.
46. Masumoto, K., Kamikado, H., Masubara, H. și Osajima, Y., *Anal. Chem.*, 1988, 60, 147.
47. Larew, L.A., Mead, D.A. și Johnson, D.C., *Anal. Chim. Acta*, 1988, 204, 43.
48. Chico Guijarro, E., Yanez-Sedeno, P. și Polo Diez, L.M., *Anal. Chim. Acta*, 1986, 179, 325.
49. Lee, I.H. și Meyerhoff, M.B., *Anal. Chim. Acta*, 1990, 229, 47.
50. Lazaro, P., Luque de Castro, M.D. și Valcarlos, M., *Analyst*, 1986, 111, 729.
51. Tzouwara-Karayanni, S.M. și Crouch, S.R., *Food. Chem.*, 1990, 35, 109.
52. Sullivan, J.J., Hollingworth, T.A., Wekell, M.M., Newton, R.T. și Larise, J.E., *Anal. Chem.*, 1986, 69, 542.
53. Fang, Z., Xu, S., Wang, X. și Zhang, S., *Anal. Chim. Acta*, 1986, 179, 325.
54. Lundback, H. și Olsson, B., *Anal. Lett.*, 1985, 18, 871.
55. Yamamoto, M., Yasuda, M. și Yamamoto, Y., *Anal. Chem.*, 1985, 57, 1382.
56. Krug, F.J., Mortatti, J., Pesendra, L.C.R., Zagatto, E.A.G. și Bergamin, F.H., *Anal. Chim. Acta*, 1981, 125, 29.
57. Van Staden, J.F., *Analyst*, 1987, 112, 595.
58. Basson, W.D. și Van Staden, J.F., *Analyst*, 1978, 103, 296.
59. Hansen, E.H., Krug, F.J., Ghose, A.K. și Ruzicka, J., *Analyst*, 1977, 102, 714.
60. Yamada, M., Kanai, H. și Suzuki, S., *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 1985, 58, 1137.
61. Borggaard, O.K. și Jørgensen, S.S., *Analyst*, 1985, 110, 177.
62. Koupparis, M.A. și Anagnostopoulou, F.I., *Anal. Chim. Acta*, 1988, 204, 271.
63. Hansen, P.W., *Anal. Chim. Acta*, 1984, 158, 375.
64. Decristoforo, G. și Knausender, F., *Anal. Chim. Acta*, 1984, 163, 73.

65. Schneider, I., *Anal. Chim. Acta*, 1984, 166, 293.
66. Lundäck, H., Johansson, G. și Holst, O., *Anal. Chim. Acta*, 1983, 155, 47.
67. Kudoh, Sh. și Nakamura, H., *Anal. Sci.*, 1998, 4, 493.
68. Garn, M., Gisin, W.M. și Thommen, Ch., *Biotech. and Bioeng.*, 1989, 34, 423.
69. Stamm, W.W. și Kula, M.R., *DECHEMA Biotechnology Conference*, 1989, vol. 3 (part B), VCH, Weinheim, 1990, 755.
70. Karlberg, B. și Thelander, S., *Analyst*, 1978, 103, 1154.
71. Shah, M.H. și Stewart, J.T., *Anal. Lett.*, 1983, 16, 913.
72. Landis, J.B., *Anal. Chim. Acta*, 1980, 114, 155.
73. Tougas, T.P. și Curran, D.J., *Anal. Chim. Acta*, 1984, 161, 325.
74. Danielson, N.D., He, L., Noffsinger, J.B. și Trell, L., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1989, 7, 1281.
75. Olsson, B., *Anal. Chim. Acta*, 1988, 209, 123.
76. Calatayud, J.M., Pascual, Marti, M.C. și Sagrado Vives, S., *Anal. Lett.*, 1986, 19, 2023.
77. Anagnostopoulou, P.I. și Kouparis, M.A., *Anal. Chem.*, 1986, 58, 322.
78. Cataldi, T.R.I., Palmisano, F. și Zambonin, F.G., *Analyst*, 1989, 114, 1449.
79. Belal, F., Anderson, J.L., *Analyst*, 1985, 110, 1493.
80. Calatayud, J.M., Falco, P.C. și Sampedro, A.S., *Analyst*, 1987, 112, 87.
81. Ruiz, E., Blanco, M.H., Abad, A.L. și Hernandez, L., *Analyst*, 1987, 112, 697.
82. Toledano, M., Gutierrez, M.C., Gomez-Hens, A. și Bendito-Perez, D., *Analyst*, 1989, 114, 211.
83. Gallo, B., Alonso, R.M., Vicente, F., Vire, J.C. și Patriarche G.J., *Anal. Lett.*, 1988, 21, 1211.
84. Latorre, C., Blanco, M.H., Abad, E.L., Vicente, L. și Hernandez, L., *Analyst*, 1988, 113, 317.
85. Alonso, R.M., Jimenez, R.M., Carvajal, A., Garcia, J. și Vicente, F., *Talanta*, 1989, 36, 761.
86. Perez Sanchez, A., Delgado Zamoreno, M., Hernandez Mendez, Rodriguez Sanchez, M.D., *Anal. Chim. Acta*, 1989, 225, 247.
87. Svensson, G. și Anfält, T., *Anal. Chim. Acta*, 1982, 119, 7.
88. Xie, R.Y. și Christian, G.D., *Anal. Chem.*, 1986, 58, 1806.
89. Rocks, B.F., Sherwood, R.A. și Riley, C., *Clin. Chem.*, 1982, 28, 440.
90. Arango, A.N. și Lima, L.F.C., *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 1989, 3, 97.

91. Ruzicka, J., Hansen, E.H. și Zagatto, E.A.G., *Anal. Chim. Acta*, 1979, 25, 443
92. Hansen, E.H., Ruzicka, J. și Ghose, A.K., *Anal. Chim. Acta*, 1979, 100, 151
93. Renoe, D.W. și O'Brien, A., *Clin. Chem.*, 1980, 26, 1021.
94. Ransing, A.D. și Ruzicka, J., *Proc. Int. Conf. Nijmegen*, 1980, 134-137, Karger, Basel, 1981
95. Alexander, P.W., Finlayson, M.J., Smythe, L.E. și Thalib, A., *Analyst*, 1982, 107, 1335
96. McLeod, C.W., Forsfold, P.J. și Cox, A.G., *Analyst*, 1984, 109, 327
97. Burguera, J.L., Burguera, M., Gallignani, M. și Alarcón, O.M., *Clin. Chem.*, 1983, 29, 567
98. Rocks, B.F., Sherwood, R.A. și Riley, C., *Anal. Clin. Biochem.*, 1984, 21, 51
99. Rocks, B.F., Sherwood, R.A., Turner, Z.A. și Riley, C., *Ann. Clin. Biochem.*, 1983, 20, 72
100. Attiyat, A.S. și Christian, G.D., *Clin. Chim. Acta*, 1984, 137, 151
101. Ramasamy, S.M. și Mottola, H.A., *Anal. Chim. Acta*, 1981, 127, 39.
102. Tachibana, M., Imamura, T., Saito, M. și Kina, K., *Bunseki Kagaku*, 1983, 32, 776
103. Lázaro, F., Luque de Castro, M.D. și Valcaroel, M., *Anal. Chim. Acta*, 1984, 165, 177.
104. Wise, J.A., Heinemann, W.R. și Kissinger, P.T., *Anal. Chim. Acta*, 1985, 172, 1.
105. McLaughlin, K., Dadgar, D., Smyth, M.E. și McMarter, D., *Analyst*, 1990, 115, 275.
106. Ogata, K., Taguchi, K. și Imanari, T., *Bunseki Kagaku*, 1982, 31, 641.
107. Hansen, E.H. și Ruzicka, J., *Anal. Chim. Acta*, 1976, 87, 353
108. Van Staden, J.F. și Basson, W.D., *Lab. Pract.*, 1980, 29, 1279
109. Baadenhuijsen, H. și Seuren-Jacobs, H.E.H., *Clin. Chem.*, 1979, 25, 443
110. Müller, H. *In: Ion-selective Electrodes*, 3, Pungor, E. (ed.), Akademiai Kiadó, Budapest, Elsevier, Amsterdam, 1981
111. Kuban, V., Gladilovich, D.B., Sommer, L. și Popov, P., *Talanta*, 1989, 36, 463
112. Jagner, D. și Arén, K., *Anal. Chim. Acta*, 1982, 141, 157
113. Martine, E.O. și Johansson, G.A., *Flow Analysis II*, Lund, Sweden, 1982.

114. Gaetani, M., Lauveri, C.F., Vitto, M., Borghi, L., Elia, G.F. și Novarini, A., Clin. Chim. Acta, 1986, 156, 71
115. Fogg, A.G. și Bsebsu, N.K., Analyst, 1982, 17, 566
116. Ohta, T., Arai, Y. și Tokitani, Sh., Anal. Sci., 1987, 3, 549
117. Kafil, J.B. și Huber, C.O., Anal. Chim. Acta, 1982, 139, 347
118. Braithwaite, I. și Miller, J.N., Anal. Chim. Acta, 1979, 106, 395
119. Hara, T., Toriyama, M. și Tsulagoshi, K., Bull. Chem. Soc. Japan, 1984, 57, 289
120. Mindegaard, J., Anal. Chim. Acta, 1979, 104, 185
121. Stewart, K.K. și Beecher, G.E., Paper 87 prezentat la a 176-a Conferință Națională a American Chemical Society, Miami, U.S.A., 1978
122. Shideler, C.E., Stewart, K.K., Crumf, J., Wills, M.R. și Menow, B.W., Clin. Chem., 1980, 26, 1454
123. Van Staden, J.F., Z. Anal. Chem., 1983, 315, 141
124. Lazaro, F., Rios, A., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., Analyst, 1986, 111, 167
125. Lazaro, F., Rios, A., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., Analyst, 1986, 111, 163
126. Linares, M., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., Anal. Lett., 1985, 18, 67
127. Linares, P., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., Anal. Chem., 1985, 57, 2101
128. Morrison, T.M., Schick, K.G. și Huber, C.O., Anal. Chim. Acta, 1980, 120, 75
129. Wang, J. și Frelha, B.A., Anal. Chem., 1983, 55, 1285
130. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1979, 106, 207
131. Banauch, D., Brümmer, W., Ebeling, W., Letz, H., Kindfrey, F., Lang, H., Leybold, K. și Rick, W., Z.Klin.Biochem., 1975, 13, 101
132. Medina, M.J., Bartroli, J., Alonso, J., Blanco, M. și Puentes, J., Anal. Lett., 1984, 17, 385
133. Wolff, C.M. și Mottola, H.A., Anal. Chem., 1978, 50, 94
134. Hara, T., Toriyama, M. și Inaki, M., Bull. Chem.Soc.Japan, 1982, 55, 1854
135. Gunasingham, H. și Tan, Ch.H., Analyst, 1990, 115, 35
136. Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chem., 1979, 51, 199
137. Tabata, M., Murachi, T.J., J.Biolum. and Chemilum., 1988, 2, 63
138. Rule, G. și Seitz, W.R., Clin. Chem., 1979, 25, 1635
139. Grayeski, M.L., Mullin, J., Seitz, W.R., Biolum. and Chemilum., 1981, Academic Press, New York, 623

cde 303/1992 Doc. 15

140. Worsfold, P.J., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., *Analyst*, 1981, 106, 1309
141. Fernández, A., Ruz, J., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., *Clin. Châm. Acta*, 1985, 146, 131
142. Fernández, A., Luque de Castro, M.D. și Valcarcel, M., 36th International Meeting on ISE, Salamanca, Spain, 1985
143. Lim, C.S., Miller, J.N. și Bridges, J.W., *Anal. Chim. Acta*, 1980, 114, 183
144. Miller, J.N., *Anal. Proc.*, 1981, 18, 264
145. Mahant, V.K., Miller, J.N. și Thakrar, H., *Anal. Chim. Acta*, 1983, 145, 203
146. Kelly, T.A. și Christian, G.D., *Talanta*, 1982, 29, 1109
147. Iob, A. și Mottola, H.A., *Anal. Chem.*, 1980, 52, 2332
148. Riley, C., Rocks, B.F., Sherwood, R.A. și Aslett, L.H., *J. Autom. Chem.*, 1983, 5, 32
149. Yao, T., Koba, Y. și Musha, S., *Anal. Chim. Acta*, 1982, 55, 2439
150. Gorton, L. și Hedlund, A., *Anal. Chim. Acta*, 1988, 213, 91
151. Mascini, M., Moscone, D. și Palleschi, G., *Anal. Chim. Acta*, 1984, 157, 45
152. Mizutani, F. și Tsuda, K., *Anal. Chim. Acta*, 1982, 139, 359

5. ALTE METODE DE ANALIZA IN FLUX

În cele ce urmează vom prezenta metode automate de analiză în flux cu caracteristici specifice, ce le deosebesc de metodele de analiză în flux discutate până la acest punct.

Aceste metode pot fi clasificate în trei grupe principale și anume:

- metode de analiză în flux cu amestecare continuă,
- metode cu amestecare continuă în flux stepat,
- titrări în flux continuu.

5.1. Metode de analiză în flux cu amestecare continuă.

Aceste metode constau în introducerea probei în sistem (sub forma unui flux continuu) amestecarea sa cu reactivul (sau cu un flux purtător) iar apoi determinarea unei proprietăți a amestecului de reacție la trecerea sa prin celula de măsură a detectorului.

Se poate lucra în sistem deschis, caz în care după efectuarea detecției amestecul de reacție este trimis la rezidii, sau în sistem închis, fiind după efectuarea detecției fluxul de reacție este recirculat. Deasemenea proba poate fi introdusă continuu în sistemul de analiză măsurându-se variația concentrației unui analit din probă, sau probele de analizat sînt introduse intermitent, între probe intercalându-se soluții de spălare pentru a se evita interacțiunea dintre probele adiacente.

5.1.1. Metode de analiză în flux cu introducerea continuă a probei

Se poate lucra în două moduri: 1) în sistem deschis, fiind după efectuarea detecției amestecul de reacție este trimis la rezidii, 2) în sistem închis, fiind după efectuarea detecției fluxul este recirculat.

sisteme deschise.

Caracteristic acestor sisteme este că se analizează o singură probă, determinîndu-se variația concentrației unui analit din aceasta în funcție de timp. Analizîndu-se o singură probă nu mai este necesară folosirea unor cicluri de spălare. Analiza se face fie măsurînd direct o proprietate caracteristică a probei (de exemplu pH-ul) fie prin amestecarea continuă a fluxului probei cu un flux de reactiv adecvat și măsurarea unei proprietăți a produsului de reacție, după aceea fluxul fiind trimis la rezidii. Astfel de sisteme sînt foarte utile pentru controlul continuu al unor poluanți din ape și din efluenți industriali, sau pentru controlul unor procese industriale.

Această metodologie de lucru, analiza în flux complet continuu (CCFA) a fost folosită [1] pentru determinarea continuă a consumului

chimic de oxigen din ape reziduale și a mercurului din ape.

Pentru determinarea continuă a consumului chimic de oxigen din ape reziduale s-a utilizat o instalație a cărei schemă este prezentată în fig. 5.1.

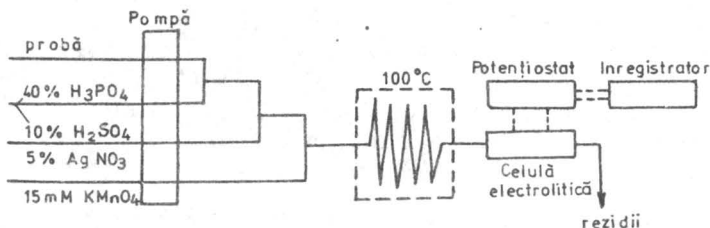


Fig. 5.1. Schema analizorului în flux complet continuu pentru determinarea consumului chimic de oxigen din ape reziduale.

Viteza redusă a reacției redox pe care se bazează determinarea face necesară utilizarea unui reactor cu lungimea de 18 m ce este imersat într-o baie termostatăată la 100 °C. Detecția se face amperometric măsurându-se consumul de permanganat. Debitul fluxurilor de lichid sînt mici (100 μ L/min pentru probă și 50 μ L/min pentru reactivi) astfel încît deși determinarea se face continuu consumul de reactivi nu este mare.

Pentru determinarea continuă a mercurului total din ape Goto [1] a realizat un analizor a cărui schemă este prezentată în fig. 5.2. Proba de analizat este aspirată prin A și este amestecată cu un flux acid, D (50% H_2SO_4) și un oxidant, E (4% persulfat de potasiu) apoi trece printr-un tub de teflon cu lungimea de 10 m și ϕ de 1 mm, ce este imersat într-o baie termostatăată la 80 °C. În acest tub substanțele organice prezente în proba de analizat sînt oxidate și compușii organomercurici sînt transformați în ioni Hg^{2+} . Proba digerată este amestecată cu un reducător, B (10% clorură stanoasă în 10% HCl) și aer, C, iar apoi trece în reactorul de reducere-extracție în care Hg^{2+} este redus la stare elementară, care apoi se distribuie între faza gazoasă (aerul introdus) și faza lichidă. Proba este apoi trecută la un separator, gaz-lichid, din care lichidul este trimis la rezidii, iar faza gazoasă trece printr-un condensator răcit cu apă la aproximativ 0 °C, la celula în flux a unui spectrofotometru de absorbție atomică, care măsoară absorbanta vaporilor de mercur la 253,7 nm. Rolul condensatorului este de a îndepărta în cea mai mare măsură vaporii de apă din fluxul de aer ce

conține vaporii de mercur, pentru ca aceștia să nu condenseze pe ferestrele celulei în flux.

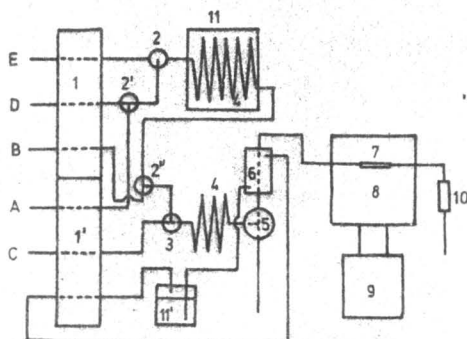


Fig. 5.2. Schema analizorului folosit la determinarea în flux complet continuu a mercurului din ape reziduale. 1 și 1' pompe peristaltice. 2, 2', 2'' și 3, puncte de confluență; 4, tub în care are loc oxidarea; 4', tub în care are loc reducerea $Hg(II)$ și trecerea în faza gazoasă a vaporilor de mercur; 5, separator gaz-lichid; 6, condensator; 7, celula spectrofotometrică în flux; 8, spectrofotometru de absorbție atomică; 9, înregistrator; 10, vas de absorbție pentru vaporii de mercur; A - E, fluxuri de probă, reducător, aer, acid și respectiv oxidant.

Consumul de reactivi este mic, de ordinul 0,1 mL/min.

Sisteme închise

În cazul acestor sisteme se face o recirculare a fluxului după ce acesta a trecut prin celula în flux. Sistemele închise își găsesc aplicații în special în studii ale cineticii unor procese de extracție și pentru titrări în sistem bifazic. Amestecul inițial ce conține cele două faze este trecut printr-un sistem de separare, iar una din faze este apoi pompată continuu la sistemul de detecție, care măsoară o modificare a unei proprietăți a sa.

În fig. 5.3 se prezintă schema unui montaj conceput pentru studii de cinetică a proceselor de extracție [2] și care a fost aplicat pentru determinarea constantei de viteză a extracției Ni^{2+} cu ditizonă.

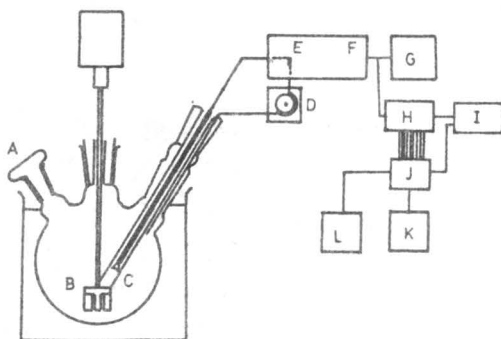


Fig. 5.3. Schema montajului automatizat folosit la studii de cinetică a proceselor de extracție. Explicații în text.

Montajul prezentat în fig. 5.3 constă dintr-un rezervor (imersat într-o baie termostatăă) în care se introduce proba prin orificiul A. Rezervorul este prevăzută cu un agitator de viteză mare, B, un separator de faze cu membrană de teflon, C, care permite trecerea selectivă a solventului nemiscibil cu apa, din amestecul acestuia cu faza apoasă, o pompă peristaltică, D și o celulă în flux, E (cu volumul de 50 μL) cu plată la un spectrofotometru, F; spectrofotometrul este conectat la înregistratorul, G și la convertorul analog/digital, H; convertorul H este conectat la ceasul, I și este interfațat cu microcomputerul, J și care este cuplat cu o imprimantă, K, sau alt sistem de înregistrare, L.

Folosirea unui program adecvat permite efectuarea unor corecții pentru deplasarea liniei de bază și pentru valorile anormal de mari ale absorbanței, ce pot apărea la trecerea unor bule de aer prin celula în flux.

Calcularea constantei de viteză a extracției Ni^{2+} în faza organică, sub forma complexului său cu ditizonă, se bazează pe utilizarea a sute de date experimentale. Întrucât măsurătorile de absorbantă sînt făcute în faza organică, procesul de extracție poate fi urmărit, fie prin măsurarea descreșterii concentrației reactivului de complexare liber, fie prin măsurarea creșterii concentrației complexului format.

5.1.2. Metode de analiză în flux cu introducerea intermitentă a probelor

Acest mod de introducere a probelor este utilizat atunci cînd ne propunem efectuarea analizei unor probe distincte. Pentru aceasta sînt necesare următoarele:

- schimbarea periodică a soluției probei aspirate în sistem. Dacă sistemul de propulsie funcționează în mod continuu, la schimbarea probelor este un interval de timp în care tubul de aspirare nu este în soluție, astfel că în sistem este aspirată o anumită cantitate de aer.
- între probele succesive aspirate în sistem trebuie intercalate cicluri de spălare. Cu cît probele sînt mai diferite între ele, cu atît timpul de spălare trebuie să fie mai lung.

Aceste metode de analiză sînt foarte adecvate pentru analize medicale. Pot fi aplicate atît metode cinetice, cît și necinetice de analiză. În fig. 5.4 se prezintă schema simplificată a unui analizor folosit la determinarea glucozei și ureei din probe de ser [3].

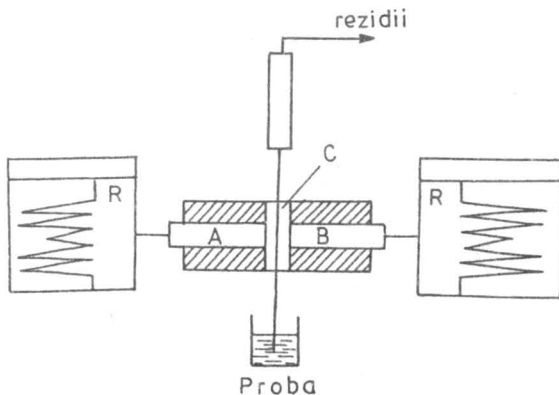


fig. 5.4. Analizor pentru determinarea simultană a glucozei și ureei din ser; A și B, electrozi enzimatici pentru aceste specii; R, înregistrator, C, celulă în flux cu volumul de 40 μ L.

Detecția se face utilizînd electrozi enzimatici, ce constau din enzimele corespunzătoare, glucoxidază și urează, imobilizate pe rețele de nylon, care sînt fixate pe senzori de oxigen și respectiv

amoniac. Fiecare probă de analizat este aspirată timp de un minut (debitul fiind de 1,8 mL/min). Urmează apoi o perioadă de spălare cu o soluție tampon, timp de două minute. În acest timp înregistratorul trebuie să revină la linia de bază. Determinarea glucozei și urecei se face simultan.

În fig. 5.5 se prezintă un montaj cu dispunerea în serie a mai multor senzori potențiometrici utilizat la determinarea a până la patru specii anorganice din ser [4].

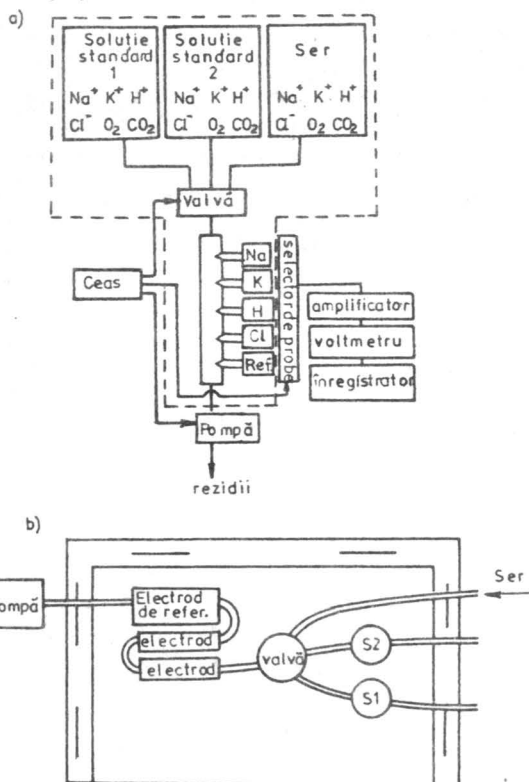


Fig. 5.5. a) Schema unui analizor pentru determinarea Na^+ , K^+ , H^+ și Cl^- din ser, folosind senzori potențiometrici plasați în serie. Linia punctată indică incinta termostată (38°C). b) Secțiune prin valvă folosită la selecția probelor și standardurilor.

Sistemul permite pomparea secvențială a probelor de analizat și a două soluții etalon, precum și achiziționarea și tratarea datelor experimen-

tale. O valvă rotativă (fig. 5.5 b) acționată de un motor cu viteză redusă stabilește ordinea în care fiecare din cele trei fluxuri este trimis la sistemul de detecție.

Bibliografie

1. Goto, M., *TrAC*, 1983, 2, 92.
2. Watarai, H., Cunningham, L. și Preiser, H., *Anal. Chem.*, 1982, 54,
3. Mascini, M. și Falleschi, G., *Anal. Chim. Acta*, 1983, 145, 213. 2390.
4. Dahms, H., *Clin. Chem.*, 1967, 13, 437.

5.2. Metode cu amestecare continuă în flux stopat.

În acest capitol sînt prezentate acele metode în care pentru un motiv sau altul fluxul este stopat. Astfel fluxul este stopat pentru: a schimba tubul prin care se face aspirarea soluției probei, la soluția reactivului, sau la soluția de spălare; a efectua schimbarea probelor; a trece suficient timp înainte ca amestecul de reacție să ajungă la detector, pentru ca reacția de dozare să poată avea loc.

Metodele în flux stopat cu amestecare continuă pot fi utilizate pentru: inserarea probei în flux fără injectare, studiul unor reacții ce au loc cu viteză mare, sau în alte scopuri.

5.2.1. Introducerea probei în flux fără injectare

Această metodologie analitică a fost descrisă pentru prima dată de Riley și colab. [1] și constituie o alternativă, atât pentru analiza prin injectare în flux, cît și pentru metodele automate de analiză în flux segmentat.

În cazul acestei metode, injectarea sau inserarea probei nu se mai face cu ajutorul unei valve, ci prin pornirea și oprirea unei pompe peristaltice la intervale de timp strict controlate. un tub de aspirare ale cărui deplasări sînt controlate cu un dispozitiv cinematic, aspiră un anumit volum de probă printr-un tub de oțel introdus în soluția probei. Sonda este apoi imersată în rezervorul cu reactiv, iar pompa este pornită din nou. Zona ce conține proba se deplasează spre detector prin spirala de reacție. În flux nu sînt prezente bule de aer acesta fiind complet continuu (nsegmentat).

Această metodă se mai numește analiză în flux cu dispersie controlată (CDFA) fiind foarte asemănătoare cu analiza prin injectare în flux (FIA).

În fig. 5.6 se prezintă schema generală a unor instalații folosite pentru transpunerea în practică a acestei metodologii analitice. Pompa peristaltică este conectată la un motor cuplat cu un microcomputer. Este interesant de notat faptul că trecerea amestecului de reacție prin tuburile pompei peristaltice nu determină o creștere a disperiei.

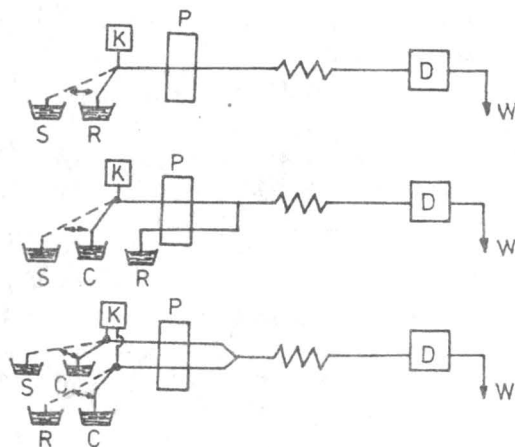


Fig. 5.6. Sisteme de analiză în flux cu dispersie controlată cu diferite grade de complexitate. a) Sistem simplu bazat pe aspirarea secvențială a probei (S) și a reactivului (R); b) reactivul este aspirat continuu și este amestecat cu un al doilea flux ce conține proba transportată de fluxul constituit din C; c) Tehnica de întâlnire a zonelor, bazată pe aspirarea alternativă a probei/reactiv, precum și a fluxului transportor; K, dispozitiv cinematic, D, detector în flux, P, pompă peristaltică, W, rezidii.

În fig. 5.6.c se prezintă un montaj mai complicat bazat pe principiul zonelor care se întâlnesc: două tuburi de aspirare sînt imersate simultan în soluțiile probei și reactivului, iar apoi în soluția din care este realizat fluxul transportor. Proba și reactivul vor ajunge în același timp la punctul de confluență al celor două canale, formînd produsul de reacție, care va fi pus în evidență de detector.

Analiza în flux cu dispersie controlată prezintă o serie de avantaje importante, dintre care menționăm:

a) Consum redus de probă,

b) Se evită folosirea unei valve de injectare, care în mod frecvent poate prezenta pierderi de lichid, fie datorită execuției necores-

punzătoare, fie datorită uzurii.

c) Metda permite folosirea a mai multor tehnici analitice (de exemplu tehnici bazate pe întâlnirea zonelor) sau tehnici de analiză în flux stopat foarte utile pentru determinări enzimatică [2].

d) Precizia rezultatelor este asemănătoare cu a celor obținute folosind o valvă de injectare.

5.2.2. Metode bazate pe cinetică rapidă.

Pentru ca o metodă cinetică să poată fi aplicată este esențial de a controla strict unele variabile, cum ar fi timpul de reacție, respectiv timpul scurs între amestecarea reactanților și efectuarea măsurătorii.

Metodele utilizate pentru a determina viteza unei reacții depind de timpul de înjumătățire. Reacțiile care au un timp de înjumătățire mai mic de 10 s sînt considerate reacții rapide. Pentru a studia sau a aplica în scopuri analitice astfel de reacții este necesară o dotare instrumentală specifică.

Problema principală în cazul metodelor bazate pe cinetică rapidă constă în realizarea unei amestecări practic instantanee și reproductibile a reactanților.

În fig. 5.7 se prezintă schemele montajelor utilizate pentru a

Schema	Flux continuu	Flux accelerat	Flux stopat	Flux pulsant
Volumul minim necesar	25 - 250 mL	≤ 1 mL	0,2 mL	4 mL
Viteza maximă a fluxului	4 m/s	≥ 10 m/s	3 m/s	2-9 m/s
Viteza fluxului în funcție de timp				

Fig. 5.7. Metode de realizare a amestecării reactanților pentru studiul reacțiilor rapide. A și B reactanți, T.O. tub de observare.

transpune în practică cele mai importante metode de lucru pentru amestecarea reactanților în scopul determinării unor viteze de reacție și anume: metode în flux continuu, în flux accelerat, în flux stopat și în flux pulsant.

Montajele prezentate în fig 5.7 permit studiul unor reacții cu timp de înjumătățire foarte mic de ordinul 10^{-3} s la utilizarea fluxurilor continue, accelerate și stopate și de ordinul 10^{-4} - 10^{-5} s la utilizarea fluxului pulsant [3].

Metode în flux continuu

Acestea au fost primele metode de studiu a unor reacții rapide propuse. Soluțiile probei și reactivului sînt transportate cu ajutorul unei pompe peristaltice (sau în alt mod) la un punct de confluență, de la care amestecul de reacție se deplasează printr-un tub de observare (T.O.) de-a lungul căruia este măsurată o proprietate a acestuia (cum ar fi absorbanta) la diferiți timpi de reacție. Deoarece reacția progresează simultan în aceeași măsură în fiecare punct de-a lungul tubului de observare, nu este necesar ca măsurătorile să fie efectuate la fel de rapid ca în alte cazuri.

Dezavantajul metodei constă în consumul ridicat al soluțiilor de reactiv și probă de analizat (care circulă cu o viteză de 4 m/s) pentru fiecare determinare.

Distanța între punctul de confluență al soluțiilor de reactiv și probă și primul punct la care se face măsurătoarea este funcție, atît de timpul de înjumătățire al reacției, care include "timpul mort" (necesar transportării unui element de fluid între punctul de amestecare și punctul la care se face măsurătoarea) cît și de eficiența sistemului de amestecare (cel puțin 95%). Ultimul factor este legat de geometria reactorului și de debitul și vîscozitatea soluțiilor ce constituie fluxurile. Curgerea trebuie să se realizeze în regim turbulent, numai în acest caz realizîndu-se o amestecare eficientă.

Metode în flux accelerat

În cazul acestor metode reacției sînt conținute în două seringi hipodermice care sînt golite rapid și simultan. Soluțiile sînt accelerate de la viteza zero la o anumită valoare a vitezei. Viteza maximă ce poate fi atinsă de lichidul ce constituie fluxul este de 10 m/s. Sistemul are un singur punct pentru efectuarea măsurătorii la o anumită distanță de punctul de amestecare. metoda poate fi aplicată pentru reacții care au timpul de înjumătățire egal sau mai mare de $5 \cdot 10^{-3}$ s.

Metode în flux stopat

În fig. 5.8 se prezintă schema unui analizor în flux stopat. Proba de analizat și reactivul sînt aspirați în două seringi, iar apoi cele două soluții sînt amestecate și trecute printr-o celulă în flux la o seringă de stopare. După efectuarea măsurătorilor amestecul de reacție este trecut la rezidii și ciclul se repetă cu o altă probă.

"Timpul mort" despre care s-a vorbit mai sus include în cazul metodelor în flux stopat o nouă componentă, așa numitul "timp de stopare",

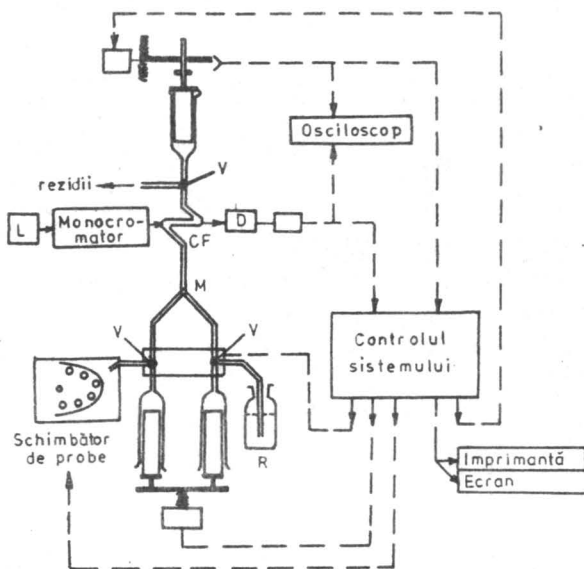


Fig. 5.8. Analizor automat în flux stopat cu detector fotometric. M, punct de amestecare; V, valvă cu trei căi; D, detector; L, sursă de lumină.

adică timpul scurs între momentul în care pistonul seringii de stopare atinge opritorul său, pînă la momentul în care fluidul ajunge efectiv în repaus (absența undelor de șoc). Acest timp trebuie să fie mult mai scurt decît cel de amestecare și de transport, pentru ca timpul total de amestecare să poată fi suficient de scurt. măsurarea semnalului analitic în funcție de timp începe imediat după stoparea fluxului. Volumele utilizate de reactanți sînt mici ($0,2 \text{ mL}$). Metoda poate fi aplicată pentru studiul unor reacții cu timp de înjumătățire chiar de $3 \cdot 10^{-3} \text{ s}$.

Microcalculatorul utilizat permite controlul funcționării instrumentului precum și achiziționarea și tratarea datelor experimentale. Un sistem mecanic umple cele două seringi cu probă și respectiv reactiv, iar apoi le golește în microcamera de amestecare, M (fig. 5.8). Valvele cu trei căi, V, sînt astfel rotite încît să permită executarea acestor operații. Un schimbător automat de probe permite aspirarea succesiv

vă a probelor de analizat. Celula în flux CF (fig. 5.8) se găsește în drumul optic al unui spectrofotometru. Seringa de stopare va reține amestecul de reacție. Timpul mort scurs între pornirea și stoparea pistonului este controlat cu un opritor, a cărui înălțime este reglată cu un șurub micrometric. Atingerea de către piston a opritorului generează un semnal electric care este înregistrat de computer și care începe măsurarea semnalului analitic. După golirea sistemului se poate efectua o nouă analiză. În altă variantă ambele semnale, cel dat de atingerea pistonului seringii de opritor și cel dat de aparatul de măsură pot fi recepționate de un osciloscop sau un aparat de măsurat viteza de reacție.

Metodele în flux stopat sînt cele mai utilizate metode pentru studiul unor reacții rapide [4-9]. O serie de firme din Europa și S.U.A livrează aparate dedicate metodelor de analiză în flux stopat, sau accesorii ce pot fi adaptate la spectrofotometrele comerciale.

Metode în flux pulsat

Aceste metode sînt realizate cu ajutorul unui sistem de seringi similar cu cel utilizat în cazul metodei în flux stopat, dar cu o durată foarte scurtă a pulsului [7, 8]. Viteza maximă a fluxului ce poate fi atinsă este între 2 și 9 m/s. Caracteristic acestor metode este "observarea integrată", care constă în plasarea în fața detectorului, atît a zonei de amestecare, partea de început a tubului de observare (O.T. fig. 5.7) cît și a restului tubului. Acest mod de măsurare necesită o amestecare foarte eficientă a reactanților pe o porțiune scurtă a tubului de observare, lucru care se realizează folosind o celulă radială de amestecare și observare cu o construcție specială. metoda poate fi aplicată pentru reacții ce au timpul de înjumătățire de ordinul 10^{-4} - 10^{-5} s.

Tehnica de detecție cea mai utilizată în cazul metodelor bazate pe cinetică rapidă este cea fotometrică, fie în forma convențională (obișnuită) fie cu sisteme de multidetecție, cum ar fi detectorii de imagine. Într-o mult mai mică măsură pentru detecție se folosesc metode fluorimetrice și electroanalitice.

Sistemul de colectare al datelor, de obicei un micro- sau mini-computer, este de o importanță deosebită, întrucît detectorul furnizează un mare număr de date într-un timp foarte scurt.

Bibliografie

1. Riley, C., Aslett, L.H., Rocks, B.F., Sherwood, R.A., McWatson, J.D. și Morgon. i., Clin. Chem., 1983, 29, 332.
2. Rocks, B.F., Sherwood, R.A. și Riley, C., Analyst, 1984, 109, 847.
3. Valcarcel, M. și Luque de Castro, M. D., "Automatic Methods of Analysis", Elsevier, Amsterdam, Oxford, 1988.
4. Hague, D.N., "Fast Reactions", Wiley and Sons, New York, 1971.

5. Mieling, G. E., Taylor, R.W., Hargis, L.G., English, J. și Pardue, H.L., Anal. Chem., 1976, 48, 1686.
6. Bonelli, I.R. și Defrees, Anal. Chem., 1980, 52, 139.
7. Owens, G.D., Taylor, R.W., Ridley, T.Y. și Margerum, D.W., Anal. Chem. 1980, 52, 130.
8. Owens, G. D. și Margerum, D.W., Anal. Chem., 1980, 52, 81A.
9. Ramsing, A.U., Ruzicka, J. și Hansen, E.H., Anal. Chim. Acta, 1981, 129, 1.

5.3. Titrrări în flux

Titrrările în flux prezintă un avantaj major față de titrrările executate în mod convențional și anume, timpul mult mai scurt necesar pentru efectuarea unei determinări. Aparatura utilizată pentru efectuarea de astfel de titrrări este în cea mai măsură automatizată, ceea ce face ca titrratoarele în flux să fie de mare eficiență.

În cazul tuturor metodelor de titrare în flux, semnalul analitic este măsurat în funcție de timp, această variabilă fiind esențială pentru astfel de determinări.

Pentru efectuarea unei titrrări în flux este necesar de a realiza un flux constituit din reactivul de titrare, în acest flux, fie se înseamnă un anumit volum bine determinat din proba de analizat, fie acesta prezintă un punct de confluență cu un flux constituit din proba de analizat. Cele două moduri de efectuare a unei titrrări în flux diferă și prin faptul că în primul caz, atunci când proba de analizat este înserată în fluxul de reactiv, acesta nu este stopat pentru analiza probelor succesive, spre deosebire de al doilea caz când fluxul respectiv este oprit.

5.3.1. Titrrări în flux fără oprirea fluxului între probele analizate

În această categorie intră titrrările FIA despre care am vorbit la cap. 4.5.7.5 și 4.5.7.6 și asupra cărora nu mai revenim.

5.3.2. Titrrări în flux cu oprirea fluxului între probele analizate: titrrări cinetice

Un exemplu reprezentativ din această categorie este sistemul de titrare potențimetric automat propus de Blaedel și Laessing [1] (fig. 5.9) Principiul de funcționare al titrratorului prezentat în fig. 5.9 este următorul: cu ajutorul a două pompe, una cu viteză constantă și una cu viteză variabilă, se obține un flux al probei cu debit constant și un flux al titrrantului cu debit variabil. Cele două fluxuri, care se întâlnesc într-un punct se vor amesteca, iar substanța de dozat va reacționa cu titrrantul. Amestecul de reacție trece în celula de titrare în care

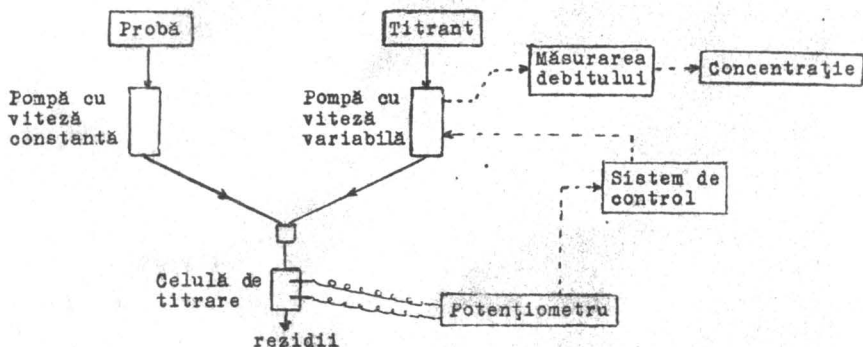


Fig. 5.9. Schema unui instrument folosit pentru titrări cinetice bazat pe utilizarea unui flux cu debit constant de probă și un flux cu debit variabil de titrant.

atingerea punctului de echivalență este pusă în evidență cu ajutorul unui sistem potențiometric constituit din doi electrozi, un electrod de platină tubular și un electrod de referință adecvat. Punctul de echivalență corespunde unui anumit potențial al electrodului indicator. Potențiometrul, conectat la unitatea centrală, compară continuu potențialul electrodului indicator cu cel corespunzător punctului de echivalență. Atingerea punctului de echivalență corespunde unui anumit debit al titrantului, care va fi funcție de concentrația substanței titrate.

Montajul utilizat este foarte simplu și nu necesită folosirea unei biurete și a unei soluții cu factor cunoscut al titrantului. Este însă necesară folosirea unei soluții de concentrație cunoscută a substanței de analizat, pentru a se putea face calibrarea.

"Titratorul controlat dinamic" propus de Abicht [2] are principiul de funcționare asemănător cu cel descris mai sus, dar în acest caz debitul titrantului este menținut constant, iar cel al probei variază în timp, crește liniar pînă la o anumită valoare iar apoi scade în același mod.

În fig. 5.10 se prezintă schema acestui tip de titrator. Probele de analizat sînt plasate pe schimbătorul automat de probe. La fiecare două minute biureta corespunzătoare probei preia o nouă probă și o trimite spre punctul de amestecare. Pompele care generează fluxurile de titrant și solvent (cu debite constante) sînt pornite simultan cu generarea fluxului de probă. Proba de analizat, solventul și titrantul se amestecă omogen, amestecul parcurge un scurt tub de reacție iar apoi acesta ajunge la celula în flux a detectorului.

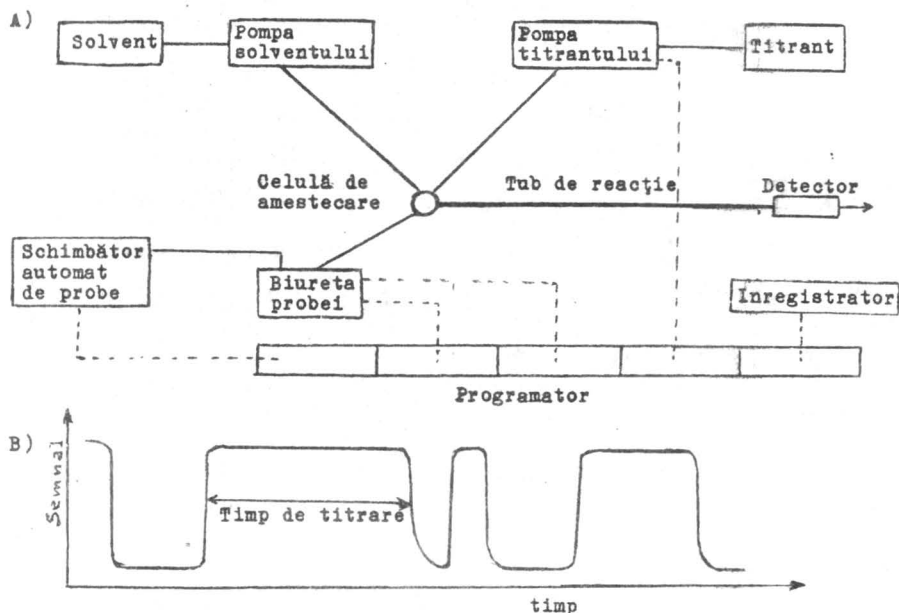


Fig. 5.10. A) Schema titratorului dinamic caracterizat printr-un debit constant al titrantului și un debit variabil al probei, B) Forma înregistrărilor obținute.

Pe măsură ce debitul fluxului constituit din proba de analizat crește, se atinge un prim punct de echivalență, pentru care proba și reactivul sînt în cantități stoechiometrice. La creșterea în continuare a debitului fluxului de probă se depășește punctul de echivalență. După depășirea valorii maxime, debitul fluxului de probă va scădea continuu, atingîndu-se din nou, la o anumită valoare a debitului, condiția de echivalență. Timpul scurs între cele două puncte de echivalență este corelat cu concentrația probei de analizat. Cu cît proba de analizat este mai concentrată, cu atît distanța dintre cele două puncte de echivalență este mai mică.

Determinarea punctului de echivalență se poate face folosind o varietate de detectori, cum ar fi: detectori fotometrici, potențiometrici sau voltametrici.

O variantă de efectuare a unei titrări în flux este cea descrisă de Fleet și Ho [3], care constă în folosirea unor fluxuri cu debite

constante din soluții ale reactivului și probei de analizat. Cele două fluxuri prezintă un punct de confluență urmat de un detector în flux. Concentrația reactivului în flux crește însă liniar în cursul procesului de titrare, pînă la atingerea și depășirea punctului de echivalență. Concentrația probei de analizat va fi dată de timpul scurs între începutul titrării și atingerea punctului de echivalență.

Tehnica de titrare cu programare în triunghi a gradientului de concentrație al titrantului [4].

În fig. 5. 11 se prezintă schematic principiul acestei tehnici de titrare.

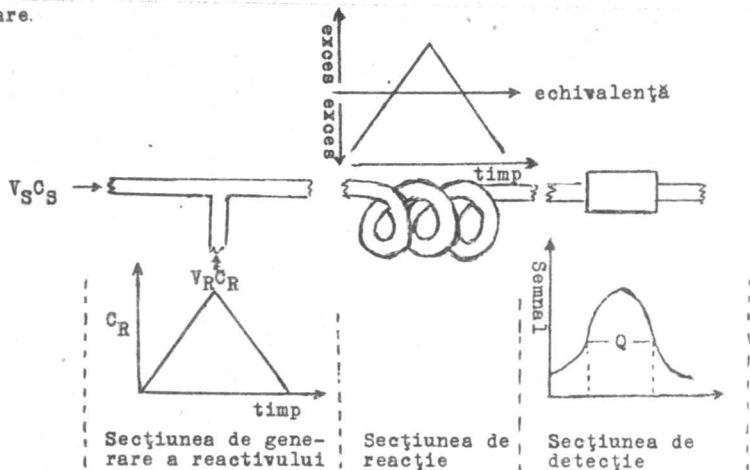


Fig. 5. 11. Reprezentarea schematică a canalului de analiză în flux și a principiului tehnicii de titrare cu programare în triunghi a gradientului de concentrație al titrantului.

După cum se vede din fig. 5.11 un flux din soluția probei (de concentrație C_S) avînd debitul constant V_S , prezintă un punct de confluență cu un flux al soluției de reactiv cu debitul constant, V_R . Concentrația reactivului în acest flux crește liniar un anumit timp, t , iar apoi scade în același mod. Gradientul de concentrație al reactivului de titrare în flux va putea fi reprezentat sub forma unui triunghi isoscel. Amestecul celor două soluții circulă printr-o secțiune de reacție iar apoi prin celula în flux a detectorului (fig. 5.11). Concentrația reactivului în flux crescînd liniar un anumit interval de timp, t , gradul de titrare al probei va crește continuu în segmentele succesive de lichid ale amestecului rezultat din soluția de reactiv și proba de analizat. La un mo-

ment dat se atinge punctul de echivalență, care va fi apoi depășit. După timpul t , concentrația reactivului în flux începe să scadă, atingându-se din nou punctul de echivalență.

În timpul modificării concentrației reactivului în fluxul acestuia, prin celula detectorului vor trece segmente ale soluției amestecului având diferite grade de titrare. Răspunsul detectorului în funcție de timp va fi sub forma a două curbe de titrare complete, una fiind față de cealaltă ca obiectul și imaginea sa în oglindă.

Intervalul de timp dintre cele două puncte de echivalență, Q , va fi utilizat pentru determinarea concentrației probei de analizat pe baza relației:

$$C_S = (2\bar{C} - Q) \frac{bq}{a} \sqrt{S}$$

unde a și b sînt coeficienții reacției de titrare:



iar n este panta variației în funcție de timp a concentrației reactivului. Se pot obține diferite tipuri de curbe de titrare și aceasta în funcție de reacția de titrare și de modul de detecție. Forma lor va corespunde însă întotdeauna curbelor de titrare convenționale. Această comportare previzibilă face foarte ușoară adaptarea unor reacții de titrare, noi tehnici de titrare în flux.

Dintre modurile posibile de programare a gradientului de concentrație al titrantului, cea mai avantajoasă s-a dovedit generarea electro-litică ("coulometrică") a acestuia. În acest caz intensitatea curentului ce generează reactivul va fi programată sub forma unui triunghi. Este însă esențial de a se lucra în astfel de condiții încît reactivul de titrare să fie generat cu un randament de 100%. Firma Radelkis (Ungaria) livrează comercial dispozitive de titrare cu programare în triunghi a gradientului de concentrație al titrantului.

Bibliografie

1. Blaedel, W.J. și Laessing, H.H., Anal. Chem., 1964, 36, 1617.
2. Abicht, S. M., 1980, 114, 247.
3. Fleet, B. și Ho, A.Y.W., Anal. Chem., 1974, 46, 9.
4. Nagy, G., Fehér, Zs., Tóth, K. și Pungor, E., Anal. Chim. Acta, 1977, 91, 87.



Bun de tipar 06.05.1992 Apărut MAI 1992

Tiraj 127 ex. Coli tipar (Fasc.) 15

Tipar executat sub Cda nr. 309/1992

Tipografia Universității București

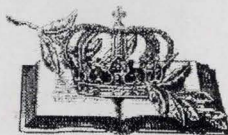
DATA RESTITUIRII

18. APR. 2005

11101 20#3

20.07.2010

BIBLIOTECA CENTRALA
UNIVERSITARA „CAROL I”



DE SPIRITU ET ANIMA

Lei 248